



**V**

**Congreso Argentino  
de Microbiología  
Agrícola y Ambiental**



# **Libro de Resúmenes**

**15, 16 y 17 de septiembre de 2021**

**Modalidad Virtual  
Centro de Convenciones Sergio Karakachoff de la  
Universidad Nacional de La Plata, La Plata,  
Argentina.**

**VARIANTES HIPERPRODUCTORAS DE PROTEÍNAS INSECTICIDAS DE  
*Bacillus thuringiensis* OBTENIDAS POR MUTAGÉNESIS INDUCIDA AUMENTAN  
TOXICIDAD PARA *Alphitobius diaperinus***

Melisa Pérez (1,2)\*, Marcelo Berretta (1,3), Graciela Benintende (1), Diego Sauka (1,3).

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Buenos Aires, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

\* perez.melisa@inta.gob.ar

La producción avícola puede verse afectada por *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Su control se basa principalmente en el empleo de productos químicos. La utilización de una herramienta de control ambientalmente sostenible podría contemplar el uso de bioinsecticidas que contengan *Bacillus thuringiensis* como ingrediente activo. La cepa nativa INTA Mo4-4, productora mayoritariamente de la proteína insecticida Cry3 durante la esporulación, presenta alta virulencia en larvas de *A. diaperinus*. A efectos de reducir costos de producción a nivel industrial, es necesario maximizar la obtención de biomasa activa (esporas y cristales proteicos). Esto podría lograrse mediante la selección de mutantes que sintetizen mayores proporciones de proteínas insecticidas obtenidas a través de mutagénesis inducida al azar. Recientemente obtuvimos tres variantes hiperproductoras de INTA Mo4-4 (28, 30 y 113) por exposición a etilmetanosulfonato. Un análisis microscópico evidenció a 30 como una variante claramente oligosporogénica. El objetivo de este trabajo fue cuantificar la actividad tóxica de las tres variantes hiperproductoras de proteínas insecticidas y compararlas con la de INTA Mo4-4. Asimismo se pretendió especular acerca de alguna posible razón responsable de la hiperproducción.

La virulencia de las variantes y de la cepa silvestre en *A. diaperinus* se determinó a través de la estimación de la concentración letal media ( $Cl_{50}$ ) en bioensayos de incorporación en dieta. Se emplearon seis concentraciones de cada muestra. Los valores obtenidos de  $Cl_{50}$  resultaron del promedio de tres bioensayos realizados en días diferentes y estimados mediante análisis Probit. Además se realizaron recuentos de esporas viables en placa a partir de la biomasa de cada variante y de la cepa silvestre.

Los resultados mostraron un aumento significativo de la actividad tóxica de las variantes hiperproductoras en comparación con INTA Mo4-4 ( $Cl_{50} = 200,7 \pm 32,5$   $\mu$ g de biomasa/ml de dieta), representando mejoramientos entre un 53 y 57%. Los recuentos de esporas de las variantes 28 y 113 fueron similares entre sí y alrededor de 3,5 veces menores que el de INTA Mo4-4 ( $5 \times 10^7$  UFC/mg de biomasa). En cambio, el recuento de la variante 30 resultó un orden de magnitud menor que el de las otras variantes y la cepa silvestre. Considerando estos resultados y observaciones microscópicas previas, la hiperproducción se asoció a variantes oligosporogénicas. Este tipo de variantes se caracterizan por cultivos donde algunas células hijas pueden esporular y otras no, haciendo que la fase estacionaria se prolongue en estas últimas, y se produzca mayor cantidad de proteínas insecticidas. Esto se evidenció claramente en la variante 30, y en menor medida en la 28 y 113, donde los recuentos de esporas fueron menores que en la cepa silvestre. El uso de este tipo de variantes podría mejorar el rendimiento de la producción de biomasa activa de INTA Mo4-4 para el desarrollo de un bioinsecticida.