

CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA MEXICANA DE *Bacillus thuringiensis* ssp. *kenyae*: UN ANÁLISIS DE SU BAJA TOXICIDAD HACIA LEPIDÓPTEROS

J. ELEAZAR BARBOZA-CORONA^{1,2}, JOEL E. LÓPEZ-MEZA² Y JORGE E. IBARRA²

¹Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad de Guanajuato, Apdo. Postal 311, 36500, Irapuato, Guanajuato, MÉXICO.

²Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., Apdo. Postal 629, 36500, Irapuato, Guanajuato, MÉXICO.

RESUMEN En el presente trabajo se analizó la baja toxicidad de una cepa mexicana de *Bacillus thuringiensis* ssp. *kenyae* (LBIT-147) con el objeto de explicar su escasa actividad insecticida. La toxicidad de la cepa LBIT-147 se probó contra ocho especies de Lepidoptera, una de Coleoptera y una de Diptera. Al utilizar cristales purificados o bien δ -endotoxina se registró ligera toxicidad contra *Manduca sexta* (L.) y *Trichoplusia ni* (Hubner). Mediante microscopía electrónica de barrido, se observaron los cristales de forma bipiramidal, de tamaño muy pequeño ($0.8 \delta\text{m} \pm 0.066$). Las proteínas del cristal se analizaron por SDS-PAGE y se determinó que están constituidos por una proteína de aproximadamente 133 kDa, la cual está inmunológicamente relacionada con las proteínas Cry1A de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1. La solubilidad de los cristales se evaluó utilizando diferentes soluciones; sin embargo, estos resultaron ser poco solubles. Los cristales bipiramidales fueron solubilizados en bicarbonato de sodio 50 mM pH 8.3 suplementado con ditiotreitól (25 mM), las protoxinas se digirieron con tripsina y se produjo un fragmento tripsina-resistente de aproximadamente 60 kDa. Los resultados que se presentan en este trabajo sugieren que aun cuando las protoxinas sean solubilizadas y digeridas por las proteasas intestinales de *M. sexta* y *T. ni*, estos no son los factores más importantes que determinan la poca toxicidad de la cepa LBIT-147.

DESCRIPTORES: Bioensayo, δ -endotoxina, patrón de proteína, solubilidad, patotipo I.

ABSTRACT In this study the low toxicity shown by a Mexican strain of *Bacillus thuringiensis* ssp. *kenyae* (LBIT-147) was analyzed in order to explain its low insecticidal activity. The toxicity of LBIT-147 was tested on eight Lepidoptera species, one Coleoptera and one Diptera. Slight toxicity was observed using either purified crystals or δ -endotoxins against *Manduca sexta* (L.) and *Trichoplusia ni* (Hubner). Scanning electron microscopy showed that the crystals are small and bipyramidal. It was demonstrated with polyacrilamide gel electrophoresis analysis of pure parasporal bodies, that the crystals are formed by a protein subunit of ca. 133 kDa, which is immunologically related to the Cry1A proteins of *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1. When solubilization of bipyramidal crystals in different solutions was tested, they showed poor solubility. In addition, crystal proteins solubilized in sodium bicarbonate 50 mM at pH 8.3 in the presence of 25 mM dithiothreitol were cleaved with trypsin, producing a fragment of ca. 60 kDa. Results obtained suggest that even if solubilization and proteolysis occur in the midgut of *M. sexta* and *T. ni*, those are not the most important factors for the low insecticidal activity of LBIT-147.

KEY WORDS: Bioassay, δ -endotoxin, protein pattern, solubility, patotype I.