

**CONTROL DE LA POLILLA DEL TOMATE (*Tuta absoluta*, M)
UTILIZANDO EL SINERGISMO ENTRE UNA QUITINASA Y
UNA δ -ENDOTOXINA NATIVA DE *Bacillus thuringiensis***

**MARÍA LORENA NIEDMANN LOLAS
DOCTOR EN CIENCIAS MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL**

RESUMEN

En la actualidad existe preocupación por el uso indiscriminado de pesticidas en la agricultura. En respuesta a esta situación, en los últimos años, se ha estimulado el uso de “biopesticidas” considerando que a diferencia de los pesticidas químicos, son seguros desde el punto de vista ambiental e inocuos para el resto de los seres vivos. Comúnmente, los biopesticidas son agentes de control biológico generalmente de origen microbiano (hongos y bacterias). El mayor número de especies conocidas con propiedades bio-insecticidas pertenece al género *Bacillus*, en particular a la especie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Algunos aislados de *Bt* probados en estudios previos presentaron actividades insecticidas significativas contra la larva de la polilla del tomate (*Tuta absoluta*). Sin embargo, los resultados no fueron totalmente satisfactorios debido principalmente, al hábito alimenticio de esta plaga. La alternativa que se plantea en el presente trabajo para soslayar este problema fue la generación de plantas transgénicas que expresan un gen seleccionado de una de las δ -endotoxinas activa contra larvas de *Tuta absoluta*. En forma paralela, con el propósito de acentuar la acción de la toxina, se incluyó una proteína con actividad quitinásica a fin de evaluar un eventual efecto sinérgico. De las líneas transgénicas generadas, tanto aquellas líneas que solo expresaban uno de los genes (*cry1Ab* o *chit33*) como aquellas otras líneas de plantas que solo expresaban el gen *chit33* y que fueron asperjadas con un formulado de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), se logró un nivel de control de la polilla del tomate (*Tuta absoluta*) superior a las plantas sin transformar. Lo anterior se vio reflejado en un menor desarrollo larval y por consiguiente en un menor daño foliar. Además las plantas que expresaban el gen *chit33* fueron ensayadas bajo la presión del inóculo de un hongo, *Botrytis cinerea*, dando como resultado plantas

que fueron capaces de sobrevivir a la infestación por sobre los 15 días en comparación a las plantas sin transformar que sólo no resistieron más de 6 días, en comparación a las plantas sin transformar. Los resultados del presente trabajo sugieren que la expresión conjunta de un gen *Bt* y un gen *chit33* puede ser una opción biotecnológica para un control más efectivo de esta plaga.

SUMMARY

Currently there is concern about the indiscriminate use of pesticides in agriculture. In response to this situation, in recent years has stimulated the use of "biopesticides" considering that chemical pesticides are safe from the environmental point of view and safe for other living beings. The greatest number of species known to bio-insecticides properties belonging to the genus *Bacillus*, in particular to the species *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Some *Bt* isolates, tested in laboratory conditions (Niedmann, 2003), presented interesting insecticidal activities against larvae of tomato moth (*Tuta absoluta*). However, the results were not entirely satisfactory, mainly due to food habits of this pest. The alternative used to address this problem was to generate transgenic plants capable of expressing a gene selected from one of the δ -endotoxins active against larvae of *Tuta absoluta*. In parallel with the purpose of emphasizing the action of *Bt* toxin, was added to test a protein with chitinase activity to evaluate a possible synergistic effect. Generated transgenic lines, both lines that only expressed one of the gen (*cry1Ab* o *chit33*) as any other plant lines expressed the gen only *chit33*, sprayed with a formulation of *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), was achieved a level of control oftomato moth (*Tuta absoluta*) than unprocessed plants. This was reflected in lower leaf damage and therefore reduced larval development. In addition, plants expressing the *chit33* gene were tested under the pressure of an inoculum of the fungus *Botrytis cinerea*, resulting in plants that were able to survive the infestation over 15 days compared to plants without transformation that resisted only 6 days. The results of this work suggest that the joint expression of a *Bt* gene and a *chit33* gene might be a biotechnological option for an effective control of this pest.