

Cultivo e identificación de un endosimbionte obligado (*yeast-like symbiont*) asociado al vector *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae)

Brentassi ME<sup>1</sup>, Toledo AV<sup>2</sup>, Medina R<sup>2</sup>, De la Fuente D<sup>1</sup>, Franco E<sup>2</sup>, Balatti P<sup>2</sup>

<sup>1</sup>División Entomología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo-UNLP-CIC-CONICET; <sup>2</sup>CIDEFI, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales UNLP- CIC-CONICET

Los hemípteros delfácidos incluyen especies vectoras de enfermedades a cultivos cerealeros. Establecen asociaciones simbióticas obligadas con organismos conocidos como yeast-like symbionts (YLS) (Fungi) los cuales complementan sus dietas nutricionalmente desbalanceadas (savia floemática). Los YS se transmiten transováricamente y resultan indispensables para el desarrollo de estos insectos. Estudios previos en *Delphacodes kuscheli*, principal vector del Mal de Río Cuarto del maíz en Argentina, identificaron organismos morfológicamente similares a los YLS en el tejido graso abdominal y en huevos. El objetivo de este trabajo fue lograr el cultivo in vitro de los endosimbiontes y conocer su identidad taxonómica. Para la obtención de YLS se utilizaron huevos extraídos desde posturas endofíticas, los cuales fueron esterilizados superficialmente con alcohol 70% e hipoclorito de sodio al 0.5% y macerados en agua destilada estéril dentro de tubos Eppendorf con la utilización de micropistilos. Alícuotas de las suspensiones logradas fueron sembradas en placas de Petri conteniendo medios de cultivo Sabouraud dextrosa agar enriquecido con 1% de extracto de levaduras (SDAY1%), agar extracto de malta 2% (AEM2%), agar sacarosa con el agregado de 4% de harina de amaranto (AS amaranto 4%) y agar sacarosa con el agregado de 4% de harina de chía (AS chía 4%). Las placas fueron incubadas a 25 y a 28 °C durante 4 días. Las colonias desarrolladas fueron caracterizadas morfológica y molecularmente y preservadas en stock a 4 °C. A fin de conocer la diversidad entre las colonias de YLS obtenidas se evaluó el perfil genético con la utilización de marcadores ISSR (*primers* AA5, FA5 y LA5) y posteriormente, aquellos que presentaron diferente patrón de bandas, se seleccionaron para la amplificación y secuenciación del ITS (*primers* ITS5 e ITS4). Se obtuvieron cuatro colonias puras de YLS en los medios SDAY1% y AEM2% tanto a 25 como a 28 °C. El análisis de diversidad evidenció la existencia de dos patrones de bandas diferentes. Los resultados de ITS mostraron que ambas secuencias obtenidas (560 pb) presentaron 100% de similitud con *Naganishia diffluens* (sinonimia: *Cryptococcus diffluens*) gb: KY104326.1. El género *Cryptococcus* fue mencionado como un *Cryp-Like Symbiote* en *Nilaparvata lugens*, delfácido plaga del arroz en Asia.