

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS ENDOFITICOS AISLADOS DE TAXUS GLOBOSA DEL PARQUE NACIONAL EL CHICO, HIDALGO.

Anahí Martínez Cárdenas, Fernando Maldonado García, Zoila Flores Bustamante, Luis B. Flores Cotera, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, AV. IPN # 2508, Fax: 57473313, correo electrónico: marcarani@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Taxus globosa*, rDNA, hongos endofíticos.

Introducción. Los hongos endofíticos son aquellos que colonizan el interior de los tejidos vivos de las plantas sin causar efectos negativos para ellas (1). La asociación planta/hongo en muchos casos es asistida por la presencia de compuestos bioactivos producidos por los hongos que en muchos casos son cruciales para la supervivencia de la planta (2). Novedosos compuestos bioactivos (antibióticos, anticancerígenos, antimicóticos) se han encontrado en cultivos de diferentes endófitos (3). Los hongos endofíticos son una rica, diversa y muy poco estudiada, fuente potencial de nuevos productos naturales. Desde la perspectiva biotecnológica, actualmente no existen reportes que proporcionen información acerca de la biodiversidad de los microorganismos endofíticos asociados al tejo mexicano. El objetivo del presente trabajo es identificar los hongos endofíticos aislados de tres ejemplares de *Taxus globosa*, del Parque Nacional "El Chico" mediante el análisis de las secuencias de la región D1/D2 del gen 28S rDNA.

Metodología. Se reactivaron en medio agar papa dextrosa 51 hongos endofíticos aislados de *Taxus globosa*. Los aislamientos fueron caracterizados morfológicamente. La extracción de DNA total se llevo a cabo usando el DNeasy Plant Mini Kit. Por PCR se amplificó un fragmento de 600 pb de la región D1/D2 del gen 28S rDNA, utilizando iniciadores universales. Los productos de PCR se purificaron con el QIAquick gel extraction kit y fueron secuenciados. Las secuencias fueron comparadas con secuencias de hongos (referencia) depositadas en la base de datos NCBI (National Center for Biotechnology Information). El alineamiento se llevo a cabo con el programa CLUSTAL X versión 2 y la determinación taxonómica de éstas, se realizó a partir de su posicionamiento del árbol filogenético construido empleando un método de distancia.

Resultados y discusión. A partir de la amplificación de 600 pb de la región D1/D2 (Figura 1), se obtuvieron las secuencias.

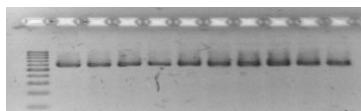


Figura 1. Fragmento de 600 pb de la región D1/D2 de 10 hongos. Carril 1 marcador 100 pb (Fermentas).

La topología del 28S rDNA, permitió reconocer 4 grupos conformados por 49 aislados. El grupo 1 integrado por 3 aislados pertenecientes al orden Diaporthales, dentro de la familia Valsaceae; el segundo conformado por 21 hongos del orden Hypocreales, dentro de las familias Bionectriaceae, Nectriaceae y Ophiocordycipitaceae; el tercero constituido por 19 dentro del orden Xylariales, ubicados en la familia Xylariaceae; y el último integrado por 6 aislados asociados al orden Pleosporales. Sin embargo, 2 aislados se asociaron a la subfila Pezizomycotina y a la fila Ascomycota respectivamente. En el cuadro 1 se muestran 10 de los 51 hongos asociados a un género mediante análisis de similitud.

Cuadro 1. Identificación de 10 cepas aisladas de *Taxus globosa* por análisis comparativo con secuencias de referencia.

CEPA	CEPA DE GENBANK	SIMILITUD
H2	<i>Daldinia childiae</i>	97%
H3	<i>Phoma exigua</i>	98%
H8	<i>Diaporthe medusae</i>	99%
H36	<i>Eutypa lata</i>	97%
H42	<i>Pestalotiopsis disseminata</i>	99%
H51	<i>Trichoderma sp.</i>	99%
H82	<i>Fusarium sp.</i>	99%
H96	<i>Daldinia childiae</i>	99%
H100	<i>Bionectria sp.</i>	98%
H110	<i>Biscongnixia sp.</i>	97%

Conclusiones. La mayoría de los aislados se asociaron a los órdenes: Diaporthales, Hypocreales, Xylariales y Pleosporales, los cuales se encuentran dentro del fila Ascomycota.

Agradecimiento. Agradezco el apoyo a CONACYT por la beca otorgada para maestría.

Bibliografía.

- Schulz B, Boyle C. (2005). The endophytic continuum. *Mycol Res.* 109(6):661-686.
- Strobel GA. (2002) Rainforest endophytes and bioactive products. *Crit. Rev. Biotechnol.* (22): 315-333.
- Castillo UF, Strobel GA, Mullenberg K, Condrón MM, Teplow DB, Folgiano V, Gallo M, Ferracane R, Mannina L, Viel S, Codde M, Robison R, Porter H, Jensen J. (2006) Munumbicins E-4 and E-5: novel broad-spectrum antibiotics from *Streptomyces* NRRL 3052. *FEMS Microbiol. Lett.* (255): 296-300.