



## POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE BACTERIAS ENDÓFITAS ASOCIADAS A *Ligusticum porteri* COULTER & ROSE (CHUCHUPATE).

Karla Iveth Aguilera Campos, Alejandra Borrego Loya, Laura Alejandra Loera Rascón, Francisco Javier Zavala Díaz de la Serna, Blanca Estela Rivera Chavira, Universidad Autónoma de Chihuahua (Facultad de Ciencias Químicas), Chihuahua, Chihuahua, 31125, karla.i.veth@hotmail.com.

*Palabras clave:* endófito, *L. porteri*, antimicrobiano.

**Introducción.** Los endófitos son microorganismos que infectan internamente tejidos vegetales vivos sin causar manifestaciones visible de la enfermedad, y viven en asociación simbiótica mutualista con las plantas, al menos una parte de su ciclo de vida (1); Los metabolitos secundarios que producen son de interés biotecnológico, por su aplicación en la producción de antimicrobianos que inhiben el desarrollo de patógenos (2). *Ligusticum porteri* (Osha o Chuchupate) nativa en las montañas del oeste de EUA desde Wyoming hasta los estados de Sonora y Chihuahua; es una planta perenne, de la familia *Apiaceae*, llega a crecer desde 50 hasta 100 cm de largo o más, en invierno la parte aérea muere y se convierte en una raíz gruesa y leñosa, con un olor característico a resina. Los indígenas han usado el chuchupate por sus propiedades medicinales, la raíz ha sido usada en preparaciones que son ingeridas (té) o usadas como ungüentos. Se utiliza para combatir las convulsiones, estimular el apetito, tratar la anemia, hemorragias, tos, tuberculosis, infecciones de piel y oídos, analgésicos, problemas cardíacos, como anticoagulante, mala circulación y diabetes (3).

El objetivo de la investigación es identificar los polimorfismos genéticos de las bacterias endófitas de raíz y tallo de *Ligusticum porteri* Coulter & Rose.

**Metodología.** Se recolectaron plantas enteras de *Ligusticum porteri* Coulter & Rose saludables y asintomáticas de la región de la Alta Bavicora de la Sierra Tarahumara, en el mes de Septiembre de 2014. Se esterilizaron según el método de Wiyakrutta (4), se aislaron las bacterias endófitas en Agar Tripticasa de Soya (TSA) a 37°C, se caracterizaron por su morfología colonial y microscópicamente por Tinción de Gram, se conservó los endófitos en criovales con glicerol al 20% y se congeló a -20°C. Se realizó la extracción de DNA genómico, utilizando el método fenol-cloroformo-alcohol isoamílico, se analizó mediante electroforesis en gel de agarosa. Se amplificó por PCR un fragmento del gen ribosomal 16S bacteriano, utilizando los primers 8F y 1492R, en 35 ciclos, se agruparon las cepas por su patrones polimórficos mediante PCR-RFLP utilizando la endonucleasa Mbol.

**Resultados.** 80 bacterias endófitas aisladas de *L. porteri*, fueron de raíz y 34 de tallo. Los endófitos se caracterizaron visualmente por su morfología

microscópica, predominando los bacilos (73%) y dentro de ellos, los Gram-negativos en un 53% (Tabla 1).

**Tabla 1.** Total de bacterias endófitas aisladas de raíz y tallo.

| Forma   | Tinción  | Raíz | Tallo | Total |
|---------|----------|------|-------|-------|
| Bacilos | Gram (+) | 14   | 9     | 23    |
|         | Gram (-) | 45   | 15    | 60    |
| Cocos   | Gram (+) | 7    | 6     | 13    |
|         | Gram (-) | 14   | 4     | 18    |
| Total   |          | 80   | 34    | 114   |

Hasta el momento, se han obtenido 12 grupos diferentes de bacterias endófitas por PCR-RFLP según la presencia de bandas similares, destacando un grupo con una frecuencia de 67% en raíz y 40% en tallo, con un patrón de 4 bandas: 700, 450, 300 y 200 pb. Las bacterias encontradas en tallo presentaron mayor diversidad de grupos que las de raíz (10:7). Los resultados presentados difieren de un estudio previo en el que la planta se recolectó en noviembre del 2012, reportando mayor número de bacterias endófitas en tallo (67% de 58) y siendo el 91% de las bacterias Gram-positivas. Algunos de los grupos formados presentan patrones de bandedo similares a los obtenidos en dicho estudio (5). Es probable que las diferencias entre los dos estudios se relacionen con efecto de los factores bióticos y abióticos sobre la microbiota endófitas en diferentes meses del año (6).

**Conclusiones.** Se encontraron 114 bacterias endófitas, pertenecientes a 12 grupos con polimorfismos en sus patrones de bandedo lo que es indicativo de la diversidad genética de estos microorganismos en *L. porteri*.

**Agradecimiento.** A CONACYT por el financiamiento al proyecto Plantas endémicas del estado de Chihuahua con clave CHIH-2011-CO3-168217.

### Bibliografía.

1. Bacon C, White J. (2000). Ecology of Woody Plant Endophytes, En: *Microbial endophytes*. Marcel Dekker Inc., New York. 389-380.
2. Schulz B, Römmert AK, Dammann U, Aust HJ, Strack D. (1999). *Myc Res* vol (103): 1275-1283.
3. Wilson M. (2007) Medicinal Plant Fact Sheet Drylands Institute, Virginia.
4. Wiyakrutta S, Sriubolmas N, Panphut W, Thongon N, Danwisetkanjana K, Ruangrunsi N, Meevootisom V. (2004). *W J Micro & Biotech* vol (20); 265-272.
5. González R. (2014). Tesis para obtener el grado de M.C en Biotecnología. FCQ. UACH.
6. Guo L, Huang G, Wang Y. (2008) *JIPB*. Vol (8); 997-1003