



SELECCIÓN DE BACTERIAS ENDÓFITAS DE LA SEMILLA DEL AGAVE PARA ESTUDIOS DE DISEÑO DE SIMBIOSIS Y TRANSFERENCIA DE NITRÓGENO EN *Agave tequilana*.

Evelyn Yuritssy Garcia Ochoa, Carola de la Torre Becerra, Jorge López-Carlos, Julia Martínez-Rodríguez, Miguel J. Beltrán-García, Universidad Autónoma de Guadalajara; Facultad de Ciencias Químicas, Zapopan 45129, evelyn_yiri710@hotmail.com

Palabras clave: Agave, *B. tequilensis*, Simbiosis

Introducción. Los endófitos son microorganismos que habitan los tejidos de plantas, sin causar daño aparente. Los endófitos poseen propiedades que pueden ser aprovechadas en la agrobiotecnología como una alternativa al uso de fertilizantes nitrogenados. Los estudios de simbiosis han utilizado como modelo a rizobacterias y micorrizas (1). Hay pocos o nulos estudios sobre el establecimiento de los endófitos y las vías de aportación de nitrógeno. Usando como objeto de investigación, el proceso de transferencia de N₂ y el diseño de simbiosis ha partir de bacterias endófitas aisladas de las semillas de *Agave tequilana* Weber. Se presentan avances de los resultados obtenidos hasta ahora del aislamiento de bacterias cultivables, su identificación, la determinación de sus propiedades usando pruebas microbiológicas, así como los efectos en el desarrollo de bulbillos de la planta mantenidos en condiciones de limitación de nutrientes por la inoculación de la bacteria endófito transmitida por la semilla. *Bacillus tequilensis* (2).

Metodología. Semillas de *A. Tequilana* fueron colectadas de campos comerciales agaveros en la región de Tequila Jalisco. Se lavaron las semillas con hipoclorito-Na (3%) y etanol al 85% para eliminar microorganismos de la superficie, las semillas fueron trituradas en solución salina y se inoculo 1 ml en placas de agar soya tripticaseína (TSA). Algunas semillas lavadas fueron colocadas directamente sobre agar TSA. Se seleccionaron 15 bacterias. Se hicieron pruebas para identificar características agronómicas (73 bacterias). La identificación de las bacterias se hizo a través de la amplificación de un segmento de 16S ADN_r y por espectrometría de Masas MALDI-TOF. Cuatro grupos con 8 plantas fueron diseñados para evaluar el efecto de las bacterias sobre el incremento de biomasa de los bulbillos, usando como soporte arena de playa. Primer grupo control, al cual solo se agrega agua estéril, grupo dos al cual se añade la solución mineral MMS (3), grupo tres con inoculación de *B. tequilensis* vivo, grupo tres con inoculación de *B. tequilensis* muerto y grupo cinco con inoculación de una cepa de *E. coli*. Los tratamientos se aplicaron cada semana hasta por tres meses.

Resultados.

Se aislaron 73 bacterias totales, incluyendo a *B. tequilensis* de la semilla. Hasta este momento se han seleccionado e identificado 8 bacterias. En el cuadro 1 se muestran los resultados de las pruebas agronómicas, resaltando las capacidades de solubilización de fosfatos,

la producción de sideroforos y la fijación de nitrógeno. En este momento se están realizando los análisis del gen NifH (nitrogenasa). Solo *E. cloacae* tiene la capacidad de producir AIA.

Cuadro 1. Propiedades agronómicas de endófitos cultivables presentes en la semilla de *A. tequilana*.

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
(1)NBrip, (2)Sideroforos, (3)Auxinas, (4)NFB, (5)Norris, (6) Celulolítico						
<i>Bacillus megaterium</i>	+	+	-	+	+	-
<i>Bacillus firmus</i>	+	+	-	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	+	-
<i>Enterobacter sp.</i>	+	+	-	+	+	-
JC1	+	+	-	+	+	+
JC2	+	+	-	+	+	+
<i>Pantoea sp</i>	+	+	-	+	+	+
<i>Enterobacter Cowanii</i>	+	+	-	+	+	+

En la **figura 1**, se muestra el incremento de biomasa vegetal en plantas inoculadas con *B. tequilensis*. La inoculación de la bacteria viva, es la condición que incrementa biomasa en gramos de forma mas aparente. La cepa de *E. coli* no endófito promueve el crecimiento de la planta de la misma manera que *B. tequilensis* muerto.

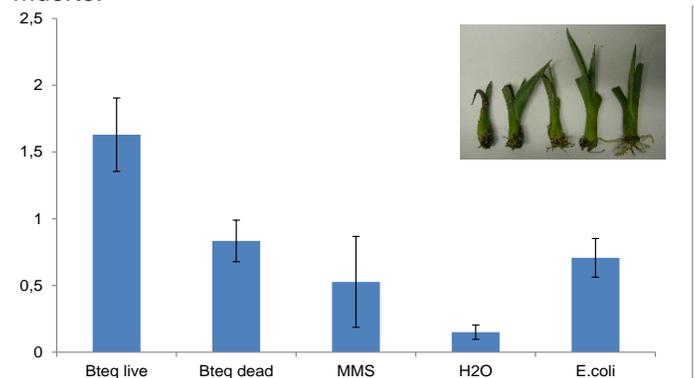


Figura 1. Aumento de biomasa vegetal inducida por la aplicación de *B. tequilensis* en suelos con limitación de nutrientes.

Agradecimientos. Proyecto CONACYT México-Brasil 207400 y Atención a Problemas Nacionales 2013-212875.

Bibliografía.

- Karrie F., David B., Cope-Selby N. (2014). *PBJ*. vol (12): pp. 1193-1206.
- Beltran-Garcia MJ., White J., Prado F., Prieta K., Yamaguchi L., Torres M., Kato M., Medeiros M., Di Mascio P. (2014). *SREP*.
- Karrie F., David B., Cope-Selby N. (2013). *AEM*. vol (80): pp. 1553-1560.