



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO *Bacillus* 83.

Wendy Ivette Aragón¹, Jesús Caballero-Mellado², Esperanza Martínez-Romero², Enrique Galindo¹.

¹Instituto de Biotecnología UNAM. ²Centro de Ciencias Genómicas UNAM. Cuernavaca, Morelos. C.P. 62210. Email: waragon@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Bacillus* 83, Control biológico, Antracnosis.

Introducción. Miembros del género *Bacillus* además de estar presentes de forma natural en la rizósfera de diversas plantas y actuar como promotoras de su crecimiento, se han destacado también por la producción de compuestos antimicrobianos. Ésta última característica le confiere ventajas para su uso como agente de control biológico en la supresión de enfermedades fúngicas y bacterianas de diversos cultivos de importancia comercial (1). De la filósfera de mango se aisló la cepa denominada como *Bacillus* sp. 83 con fundamento en las pruebas bioquímicas con API 50 CH (bioMérieux) (2). Se realizaron estudios de antagonismo de la cepa contra diversos hongos causantes de enfermedades en cultivos de importancia comercial, encontrándose importante actividad antagonica contra *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis del mango (2).

Con la finalidad de eventualmente hacer un seguimiento de *Bacillus* 83 en campo, es primeramente necesario el desarrollo de un marcador molecular específico y por lo tanto como un primer paso, se caracterizó molecularmente a la cepa antagonica.

Metodología. Para la caracterización molecular de *Bacillus* 83 se utilizó como templado DNA genómico de la bacteria para la amplificación de dos genes, 16S rRNA y *recA*. Para la amplificación del 16S rRNA se utilizó un par de *primers* universales, D1 (3). Mientras que para el gen *recA* se empleó un par de *primers* basado en regiones conservadas del gen en miembros del género *Bacillus*; siendo *recA* (4). El análisis de la homología de la secuencia de cada gen amplificado (16S rRNA y *recA*), se realizó con el programa Blastn. Finalmente, se realizó un árbol filogenético con la secuencia del gen *recA* empleando el método de Máxima verosimilitud mediante el programa Phylml 3.0.

Resultados. Los resultados en la homología en secuencias del gen 16S rRNA de *Bacillus* 83 y las encontradas en la base de datos, reveló que la secuencia del fragmento amplificado de 1543 pb comparte el 99% de identidad tanto con *B. subtilis* subsp. *subtilis* 168 (AL009126.3) como con *B. amyloliquefaciens* FZB42 (CP000560.1). Fue claro que el gen 16S rRNA como único parámetro para la identificación no permitió la distinción entre estas dos especies muy cercanas de *Bacillus*. El gen *recA* se ha usado como marcador molecular y es útil cuando hay una gran similitud entre los genes de 16S rRNA (5). Los resultados del análisis de

la secuencia del fragmento amplificado de 824 pb de este gen de *Bacillus* 83 mostraron el 100% de identidad con el gen de la recombinasa A de *B. amyloliquefaciens* FZB42 (CAD56687.1). La filogenia con la secuencia del gen *recA* ubicó a *Bacillus* 83 en el grupo de *Bacillus amyloliquefaciens* (Fig. 1).

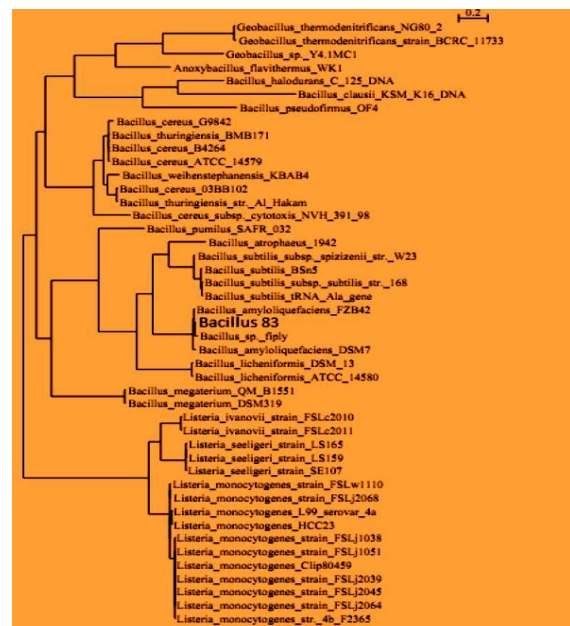


Fig. 1. Árbol filogenético de *Bacillus* 83 basado en la secuencia del gen *recA*.

Conclusiones. El agente de control biológico *Bacillus* 83 usado como antifúngico, mostró gran similitud tanto con *B. subtilis* como con *B. amyloliquefaciens*, de acuerdo a las secuencias de los genes 16S rRNA y *recA* analizadas.

Agradecimiento. Apoyo financiero del proyecto DGAPA IN222010.

Bibliografía.

1. Ongena, M. and Jacques, P. (2008). I. *Trends Microbiol.* 16(3):115-125.
2. Carrillo-Fasio, García, R., Muy-Rangel, M., Sañudo, A., Márquez, I., Allene, R., Garza, Z., Patiño, M., Galindo, E. (2005). *Rev. Mex. Fitopatol.* 23(1):24-32.
3. Weisburg, W., Barns, S., Pelletier, D., Lane, D. (1991). *J. Bacteriol.* 173(2):697-703.
4. Kwon, G., Lee, H., Park, J., Kim, J., Lim, J., Park, C., Kwon, D., Kim, Y., Kim, J. (2009). *Int. J. Food Microbiol.* 129(3):282-287.
5. Payne, G., Vandamme, P., Morgan, S., Lipuma, J., Coenye, T., Weightman, A.J., Jones, T. Mahenthiralingam, E. (2005). *Appl. Environ. Microbiol.* 71:3917-3927.