

ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE UNA BACTERIA METILOTRÓFICA FACULTATIVA DE PIGMENTO ROSA (*Methylobacterium* sp.) EN CULTIVOS *in vitro* DE *Agave tequilana* WEBER VAR. AZUL, POR MEDIO DE FLUORESCENCIA INDUCIDA POR LASER.

Jesús Cervantes-Martínez y Benjamín Rodríguez-Garay. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Av. Normalistas 800, Guadalajara, Jalisco. México. 44270. cervantes@ciatej.net.mx

Palabras clave: *Methylobacterium*, fluorescencia, espectro de fluorescencia.

Introducción. Las bacterias metilotróficas facultativas de pigmento rosa (PPFMs) han sido encontradas sobre la superficie de las hojas de muchas plantas (1). Se ha reportado que la relación entre las PPFMs y las plantas es benéfica (2). Por otro lado, en cultivos *in vitro* de plantas, frecuentemente ocurren contaminaciones bacteriales, en muchas de las cuales es difícil determinar los efectos sobre las plantas. Las bacterias PPFMs, proporcionan un modelo útil para estudiar las interacciones inapreciables entre plantas y bacterias. Por medio de la fluorescencia inducida por láser es posible detectar estas interacciones ya que existe una relación inversa entre la fluorescencia y la eficiencia fotosintética de la planta (3), las condiciones de estrés que pueden ser detectadas con fluorescencia y su subsecuente aplicación han sido reportadas (4), entre ellas están los efectos de: senescencia, deficiencia de agua, daño mecánico de hojas, heladas, calor, deficiencia de nutrientes, estrés químico, exposición a herbicidas, etc.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos de bacterias PPFMs sobre cultivos *in vitro* de *A. tequilana* Weber var. azul.

Metodología. Se utilizaron cultivos *in vitro* de *Agave tequilana* contaminados con PPFMs, cultivos contaminados con hongos y bacterias desconocidas, y cultivos limpios de microorganismos como control. El efecto de los microorganismos sobre *A. tequilana in vitro* fue estudiado mediante la fluorescencia inducida por láser (conocida como LIF por sus siglas en inglés) para lo cual se utilizó un láser de He-Ne que emite a 633 nm como fuente de excitación. La fluorescencia fue capturada por medio de una fibra óptica conectada a un espectrofotómetro Ocean Optics Mod. SD2000.

Resultados y Discusión. Los espectros LIF de los cultivos *in vitro* de *A. Tequilana* se presentan en la Fig. 1. Estos espectros muestran máximos a 690 nm (reacción fotosintética del fotosistema II) y a 740 nm (Fotosistema I) (3), los máximos a 690 nm no mostraron diferencias entre los tratamientos estudiados. Por otra parte, la fluorescencia emitida por los mismos cultivos *in vitro* contaminados con microorganismos desconocidos (Fig. 1 a y b), mostraron un valor más alto en la banda de 740 nm comparados con los cultivos limpios (Fig. 1 c). También, en la misma figura se puede apreciar que el valor de esta banda en los cultivos contaminados con PPFMs (Fig. 1. d) es más bajo que el del control limpio de contaminación, lo cual indica una mejor eficiencia fotosintética. Este resultado concuerda con

reportes anteriores (2) que indican que este tipo de bacterias proveen de elementos (metabolitos) benéficos a las plantas superiores para un óptimo desarrollo y crecimiento.

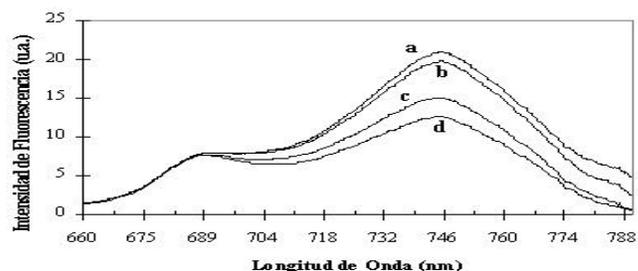


Fig. 1 Efectos de contaminantes bacteriales y fúngicos sobre los espectros de fluorescencia en cultivos *in vitro* de *Agave tequilana* Weber var. azul. Cultivos contaminados con: a) bacteria desconocida. b) bacterias y hongos desconocidos. c) cultivos limpios como control. d) PPFMs.

Conclusiones. Aunque estos estudios han sido preliminares en alcance y profundidad, los resultados muestran que la bacteria metilotrófica facultativa de pigmento rosa (PPFMs) estudiada, tiene efectos benéficos sobre plantas cultivadas *in vitro* similares a los ya observados *in vivo* en otras especies vegetales (2). Sin embargo, son necesarios más experimentos definitivos.

Agradecimientos. J. C. M. es estudiante de Doctorado en el Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. (León, Gto.).

Bibliografía

1. Sermsiri, Ch., Todd, J.J., Widholm, J.M. (1996). Prevention of pink-pigmented methylotrophic bacteria (*Methylobacterium mesophilicum*) contamination of plant tissue cultures. *Plant Cell Rep.* 16:222-225.
2. Holland, M.A. (1994). PPFMs and other covert contaminants: is there more to plant physiology than just plant? *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 45:197-209.
3. Chappelle, E.W., Wood, F.M., McMurtrey III, J.E., Newcomb, W.W. (1984). Laser-induced fluorescence of green plants. 1: A technique for the remote detection of plant stress and species differentiation. *Appl. Optics* 23:134-138.
4. Lichtenthaler, H.K., Rinderle, U. (1988). The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.* (Suppl. 1) 19:529-585.