



COMPARACIÓN DE COMUNIDADES MICROBIANAS DE *Capsicum annum* PROVENIENTES DE PLANTAS SANAS Y ENFERMAS CON CENICILLA UTILIZANDO MÉTODOS DEPENDIENTES E INDEPENDIENTES DE CULTIVO.

Aidet Gutierrez-Villagrana¹, Cesar Guigón-López², Hilda Piñón-Castillo¹, Román Gonzalez-Escobedo³, Laila Muñoz-Castellanos¹. **1-FCQ-UACH.** Chih. Chihuahua CP. 3112 **2-CIReNa.** Salaises. Chihuahua. CP. 33941. **3-ENCB-IPN.** CDMX. Correo electrónico: aidet_gutierrez@outlook.com

Palabras clave: Microbioma, *Capsicum annum*, *Cenicilla*.

Introducción. En México el chile (*Capsicum annum*) es uno de los cultivos que tiene mayor importancia socioeconómica, ubicándose como el principal exportador de chile verde a escala internacional y el segundo productor mundial, sin embargo se han reportado pérdidas masivas debido a la cenicilla, una enfermedad causada por el hongo *Leveillula taurica* (1). Una alternativa para evitar los efectos de este hongo es mediante el uso de control biológico. En los últimos años se han realizado numerosos trabajos sobre la composición de microbiomas de muchas plantas en los cuales se ha determinado que contienen especies capaces de ayudar a sus hospederos a tolerar condiciones bióticas y abióticas. Otra visión alternativa, es que el éxito en el control biológico de las enfermedades de los cultivos también puede provenir de estudios del microbioma asociado con plantas enfermas (2).

El objetivo del presente trabajo fue el de identificar y comparar las comunidades microbianas que colonizan el follaje del chile jalapeño en plantas sanas y enfermas con cenicilla y determinar si existe alguna relación entre ambos microbiomas que pueda impedir la invasión de cenicilla.

Metodología. Se muestrearon 2 parcelas de chile jalapeño de variedades diferentes: Marajá y Grande F2 en Delicias, Chihuahua. De cada una de las parcelas se obtuvieron 180 hojas de plantas sanas y 180 hojas de plantas enfermas con cenicilla. Las muestras fueron procesadas de acuerdo al protocolo descrito por Ritpitakphong et al.(2016) (3). Para las pruebas dependientes de cultivo se aislaron los microorganismos presentes en las muestras y se revisó morfología macroscópica y microscópica. Enseguida, se realizó la técnica de RAPD utilizando el primer M13 (4) para agrupar los diferentes aislados en OTUs. Por último, se hizo la identificación molecular de todos los microorganismos aislados utilizando los primers ITS1 e ITS4 para hongos y 27F y 1498R para bacterias. En el caso de las muestras independientes de cultivo, el ADN metagenómico fue extraído utilizando el Kit ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep, amplificado usando los primers ITS1 E ITS4 para hongos y Bakt_341F y Bakt_805R para bacterias. Finalmente, el amplificado fue secuenciado mediante Illumina MiSeq y las secuencias crudas obtenidas fueron analizadas mediante el programa bioinformático QIIME (5).

Resultados. Se aislaron un total de 132 microorganismos en las pruebas dependientes de cultivo. En la tabla 1 se muestran los microorganismos totales aislados pertenecientes a cada muestra. Se puede observar que hay un mayor número de microorganismos cuando la planta se encuentra enferma con cenicilla lo que nos indica que hubo un aumento de la comunidad microbiana.

Tabla 1. Microorganismos totales aislados de las muestras de las hojas de Chile Jalapeño.

Variedad	Marajá Sanas	Marajá Enfermas	Grande F2 sanas	Grande F2 Enfermas
Microorganismos				
Bacterias Gram +	12	14	16	35
Actinomicetos	0	0	0	5
Hongos	12	18	12	8
Total	24	32	28	48

Cabe destacar que dentro de estos microorganismos se encuentra un hongo de interés en ambas variedades de las plantas sanas el cual de acuerdo a su morfología macroscópica y microscópica coincide con *Ampelomyces quisqualis* un microorganismo antagonista de cenicilla.

Conclusiones. Hasta este momento se han aislado una gran variedad de microorganismos principalmente de las plantas enfermas con cenicilla, de los cuales hay posibles candidatos antagonistas contra este hongo. La completa identificación molecular de los microorganismos aislados aún está en proceso al igual que el análisis del metagenoma.

Agradecimientos. Agradezco a CONACYT por su apoyo económico.

Bibliografía

- 1- Aguirre Hernández E y Muñoz Ocotero V. (2015). El chile como Alimento. *Cienc Cienc (Mex city Mex)*. 66: 16-19.
- 2- Ellis, J. G. (2017). Can Plant Microbiome Studies Lead to Effective Biocontrol of Plant Diseases?. *Molecular plant-microbe interactions*, 30(3), 190-193.
- 3- Ritpitakphong, U., Falquet, L., Vimoltust, A., Berger, A., Métraux, J. P., & L'Haridon, F. (2016). The microbiome of the leaf surface of *Arabidopsis* protects against a fungal pathogen. *New Phytologist*, 210(3), 1033-1043.
- 4- Rossetti, L., & Giraffa, G. (2005). Rapid identification of dairy lactic acid bacteria by M13-generated, RAPD-PCR fingerprint databases. *Journal of Microbiological Methods*, 63(2), 135-144
- 5- Caporaso JG, et al. (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods* 7:335-336.

