

# CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DEL HONGO *METARHIZIUM* PARA SU APROVECHAMIENTO EN LA PRODUCCIÓN DE AGROALIMENTOS EN EL ESTADO DE GUANAJUATO

Ruiz Aguilar Isay (1), Piña Torre Iván Horacio (2), Cabrera Rangel José Francisco (2), Guzmán Torres Juan Carlos (2), Padilla Guerrero Israel Enrique (2)

1 [Licenciatura en Biología Experimental, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [Isay1994@hotmail.com]

2 [Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [ie.padillaguerrero@ugto.mx]

## Resumen

El hongo del género *Metarhizium* ha sido estudiado desde hace más de 100 años por su capacidad como entomopatógeno provocando la "Muerte Verde" en insectos, además se ha observado que este hongo potencia el crecimiento de plantas como *Zea mays*, *Sorghum vulgare* y *Phaseolus vulgaris*. En este trabajo se recolectaron muestras de tierra de la zona volcánica de Valle de Santiago en el estado de Guanajuato de las cuales se aislaron nueve cepas de *Metarhizium*. Se determinó el porcentaje germinación *in vitro* en semillas de *S. vulgare* y *P. vulgaris* en interacción con las nueve cepas de *Metarhizium* aisladas, con las cuales se observó un aumento en porcentaje de germinación en semillas de *S. vulgare* con las cepas RPV10-1, RPV10-2, RPV19, RPV5, RPV3, HA14, además se observó que las cepas HS12, HS22, HA14-2 inhiben la germinación de las semillas de *S. vulgare*, mientras que en *P. vulgaris* se observó una inducción en la densidad y largo de los pelos radiculares con los 9 aislados.

## Abstract

The fungi of the genus *Metarhizium* has been studied for over 100 years for its capacity as entomopathogenic causing the "Green Death" in insects also it has been observed that this fungus enhances the growth of plants such as *Zea mays*, *Sorghum vulgare* and *Phaseolus vulgaris*. In this study soil samples were collected from the volcanic area of Valle de Santiago in the state of Guanajuato, nine strains of *Metarhizium* was isolated. The percentage of germination *in vitro* with *Sorghum vulgare* was increase with RPV10-1, RPV10-2, RPV19, RPV5, RPV3, HA14 strains, also observed that HS12, HS22, HA14-2 strains inhibit seed germination in *Sorghum vulgare*. While in *Phaseolus vulgaris* was observed an induction in the density and length of root hairs with the nine strains.

## Palabras Clave

Palabra clave 1: *Metarhizium*, Palabra clave 2: Simbiosis, Palabra clave 3: Planta

## INTRODUCCIÓN

### *Metarhizium* hongo potenciador del crecimiento

La actividad de cualquier organismo cambia el medio en el cual vive; muchas veces estos cambios dan lugar al individuo a presentar asociaciones con otros organismos de diferente especie, es decir una simbiosis. *Metarhizium spp.* proporciona un modelo inusualmente versátil para estudiar las interacciones entre hongos, insectos y plantas, con beneficios potenciales para la producción agrícola; ha sido descrito como un hongo del género ascomicetos, clasificado como entomopatógeno-micorrizico, ya que existe una asociación simbiótica benéfica entre hongo y raíces de la planta hospedera haciendo translocaciones de nitrógeno provenientes de insecto a planta y este recibiendo compuestos de carbono a cambio, aunque también se ha visto este puede ser endófito ya que no es necesario que este tenga contacto con órganos especializados [1].

En este trabajo se realizó la búsqueda y caracterización de nuevas cepas de *Metarhizium* en el estado de Guanajuato, con la finalidad de evaluar si las cepas originarias de la región del bajo tienen características para ser aprovechadas en la producción de agroalimentos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestra de la rizosfera de diversas plantas en las zonas volcánicas de Valle de Santiago, Guanajuato, ya que se ha observado en los cráteres de este sitio existen diversidad de micro-ecosistemas. Las muestras obtenidas fueron crecidas en medio selectivo solido suplementado con el fungicida dodine, las muestras se dejaron incubando a 28°C por 15 días. Una vez identificadas las colonias de *Metarhizium* por la morfología de sus colonias se realizaron pases monospóricos en medio selectivo. Una vez obtenidas las colonias monospóricas se prosiguió con la extracción de DNA, para realizar un PCR de un fragmento del factor de elongación de aproximadamente 800 pb. dicho fragmento fue

purificado y clonado al plásmido pGEM-easy, para su posterior secuenciación.

Se realizó la interacción de las 9 cepas aisladas de *Metarhizium* con semillas de *Sorghum vulgare* y *Phaseolus vulgaris* para observar si las diferentes cepas influían en la germinación de las semillas, el crecimiento y desarrollo de la raíz, para lo cual se realizó una inoculación de *Metarhizium* a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidias/mililitro a 2 cm de las semillas que se colocaron en una línea recta en una caja Petri con agar agua durante 8 días.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Aislamiento e identificación

Se aislaron colonias de *Metarhizium* de 7 muestras obteniendo 9 cepas las cuales fueron denominadas RPV10-2, RPV10-1, HA14-1, RPV19, HS12, HS22, RPV5, HA14-1, RPV3 las cuales se muestran en la Figura 1, observando que las 9 cepas muestran una morfología colonial diferente.

Se comprobó la identidad de género de los 9 aislados al crecerlos en medio selectivo específico de *Metarhizium*, así como por morfología de las conidias, con la finalidad de conocer a futuro la especie de los 9 aislados se clono el fragmento del factor de elongación alfa de acuerdo a lo descrito por Bischoff [3] (Figura 3).

## INTERACCIÓN

Se probó la interacción de las distintas cepas aisladas de *Metarhizium* con semillas de *S. vulgare* y *P. vulgaris* comparándolas con su respectivo control, en el cual observamos que las semillas de sorgo con inoculación de las cepas RPV10-2, RPV10-1, RPV19, RPV5, RPV3, HA14-1 germinaron en un porcentaje mayor al control (Figura 2 y Tabla 1) y como un dato muy interesante se aislaron tres cepas denominadas

HS12, HS22, HA14-2 las cuales inhiben la germinación de semillas de sorgo.

En la interacción con *P. vulgaris* se observó que la mayoría de los aislados muestran una menor germinación a excepción de la cepa RPV5 la cual tuvo un porcentaje de germinación del 100% (Tabla 2).

También se observó si ocurrió algún cambio en la morfología de los pelos radiculares en la interacción de las plantas y los aislados de *Metarhizium*, observando únicamente una mayor densidad y crecimiento en las plantas de *P. vulgaris* (Figura 4).

## CONCLUSIONES

En este trabajo se logró el aislamiento 9 cepas *Metarhizium*, obteniendo una gran variedad de fenotipos en la morfología colonial, así como diferentes efectos en la interacción de estas cepas con las plantas *P. vulgaris* y *S. vulgare*, lo cual nos indica que muy probablemente los 9 aislados tengan un genotipo diferente. También probamos que en el estado de Guanajuato hay biodiversidad del hongo *Metarhizium*, la cual puede utilizarse en el futuro próximo para la producción de agroalimentos.

## AGRADECIMIENTOS

Al equipo de trabajo del laboratorio LABGENMOL por los consejos, las enseñanzas y el excelente ambiente de trabajo.

A veranos UG, por brindarme la oportunidad de ser partícipe de este proyecto y la beca otorgada.

## REFERENCIAS

[1] Behie S. W., Zelisko P. M., Bidochka M. J.. (2012) Endophytic Insect-Parasitic Fungi Translocate Nitrogen Directly from Insects to Plants, *Science* 1576; 336.

[2] Mayerhofer Johanna, Lutz Andy, Widmera Franco, Rehner Stephen A., Leuchtmanb Adrian, Enkerlia Jürg. (2015) Multiplexed microsatellite markers for seven *Metarhizium* species. *Journal of Invertebrate Pathology*, 132:132-4.

[3] Bischoff JF, Rehner SA, Humber RA. (2009) A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*. 101(4):512-30.

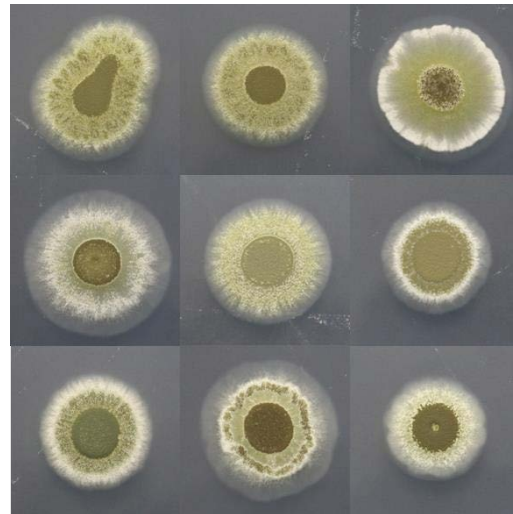


Figura 1. Morfología colonial de los aislados de *Metarhizium*. Aislados 1) RPV10-2, 2) RPV10-1, 3) HA14-2, 4) RPV19, 5) HS12, 6) HS22, 7) RPV5, 8) HA14, 9) RPV3.

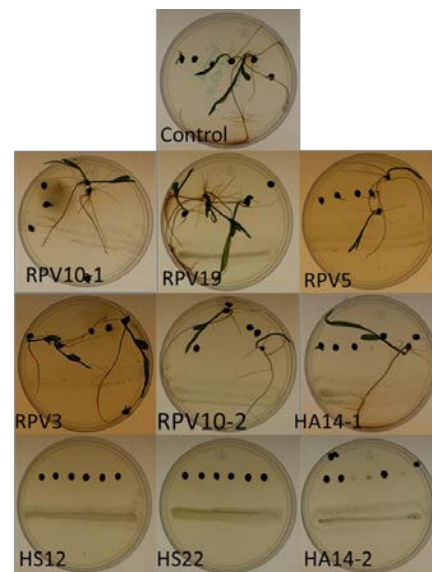
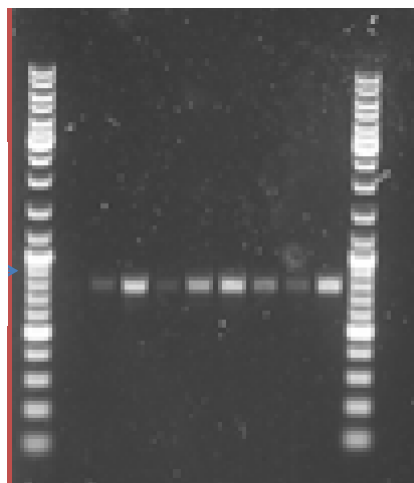


Figura 2. Interacción de los 9 aislados de *Metarhizium* con semillas de *S. vulgare*. Se observa la interacción de las semillas de *S. vulgare* con los diferentes aislados de *Metarhizium* y las semillas control sin la aplicación de *Metarhizium*.

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 M



800 pb

Figura 3. Amplificación del factor elongación alfa de *Metarhizium*. Se muestra la purificación de los fragmentos del factor de elongación de los diferentes aislados. Aislados 1) RPV10-2, 2) RPV10-1, 3) HA14-2, 4) RPV19, 5) HS12, 6) HS22, 7) RPV5, 8) HA14, 9) RPV3.

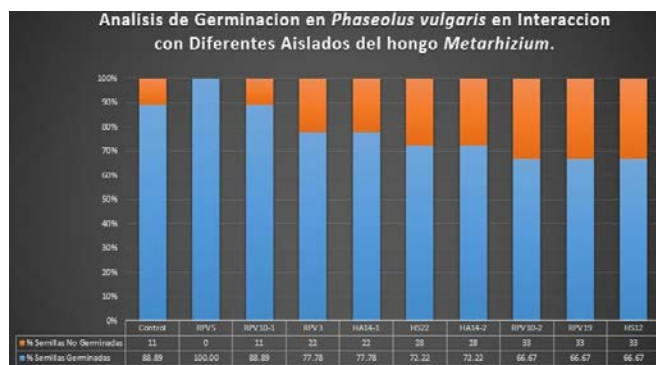


Tabla 2. Porcentaje de Semillas Germinadas y Semillas no Germinadas en *P. vulgaris*.



Tabla 1. Porcentaje de Semillas Germinadas y Semillas no Germinadas en *S. vulgare*

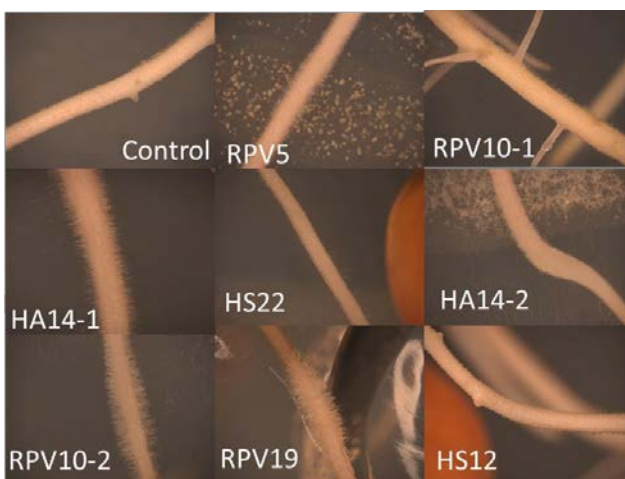


Figura 4. Interacción de los 9 aislados de *Metarhizium* con *P. vulgaris*. Se tiene un mayor número de pelos radicales, así como una mayor longitud, con todos los aislados al comparar con las cajas control