

## GENERACIÓN DE RAÍCES TRANSFORMADAS DE *AGAVE SALMIANA* Otto Y SU COLONIZACIÓN POR *GLOMUS INTRARADICES*

### GENERATION OF TRANSFORMED ROOTS OF *AGAVE SALMIANA* Otto AND THEIR COLONIZATION BY *GLOMUS INTRARADICES*

Guillermo Rodríguez Hernández<sup>1\*</sup>, Francisco Morales Domínguez<sup>2</sup>, Rafael Gutiérrez Campos<sup>2</sup>, Sergio Aguilar Espinosa<sup>3</sup> y Eugenio Pérez Molphe-Balch<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad Académica de Agronomía, Universidad Autónoma de Zacatecas. Km 15.5 Carr. Zacatecas-Villanueva Cieneguillas, Zac. 98170, Zacatecas, Zac. México. Tel. y Fax: 01 (492) 924-4147. <sup>2</sup>Departamento de Química, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad 940. 20100, Aguascalientes, Ags., México. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. Km. 40 Autopista Colima-Manzanillo. 28100, Tecmán, Col., México.

\* Autor para correspondencia (grodri@uaz.edu.mx)

#### RESUMEN

El presente estudio es el primer reporte sobre la inducción de raíces transformadas por *Agrobacterium rhizogenes* en *Agave salmiana* Otto, así como del establecimiento de un hongo micorrízico en las mismas. Para lograr lo anterior se inocularon plantas germinadas *in vitro* con diferentes concentraciones de bacteria y de acetosiringona en varios sitios (hoja, tallo y raíz). El tiempo de cocultivo en oscuridad fue de 6 d. Las raíces transformadas se presentaron a los 25 d después de la inoculación. La mayor eficiencia de transformación resultó de la inoculación al tallo con  $1 \times 10^9$  bacterias  $\text{mL}^{-1}$  y  $200 \mu\text{M}$  de acetosiringona, condiciones en las que se obtuvo 63 % de raíces transformadas. La naturaleza transgénica de las raíces generadas se verificó mediante un ensayo histoquímico para detectar actividad de GUS y los transgenes se amplificaron en muestras de ADN de raíz a través de PCR. Se detectó actividad de GUS en 80 % de los tejidos probados, mientras que los genes *rolB* y *nptII* se amplificaron en 60 % de las muestras de ADN analizadas por PCR. Se demostró la capacidad de *Glomus intraradices* para colonizar *in vitro* las raíces transformadas de *A. salmiana*, con una eficiencia de colonización de 70 %. Se logró la recuperación de esporas hijas, con un promedio de 300 esporas hijas por cultivo, a los 6 meses de iniciada la inoculación.

**Palabras clave:** *Agrobacterium rhizogenes*, Acetosiringona, GUS, micorrizas.

#### SUMMARY

The present study is the first report on the induction of transformed roots in *Agave salmiana* Otto using *Agrobacterium rhizogenes*, as well as of the establishment of a micorrhizic fungus in the same roots. To achieve this, *in vitro* germinated plants were inoculated with several bacteria and acetosyringone concentrations, in several places (lea, stem and root). The time of cocultivation in darkness was of 6 d. Transformed roots were presented to the 25 d after inoculation. The higher transformation efficiency resulted from stem inoculation with  $1 \times 10^9$  bacteria  $\text{mL}^{-1}$  and  $200 \mu\text{M}$  acetosyringone, condition in which 63 % of transformed roots was obtained. The transgenic nature of the generated roots was verified by means of the GUS assay and the transgenes were amplified through PCR in samples of root DNA. GUS activity was detected in 80 % of the proven roots, while *rolB* and *nptII* genes were amplified in 60 % of the DNA root samples analyzed by PCR. The ability of *Glomus intraradices* to colonize *in vitro* the transformed roots of *A. salmiana* was demonstrated with an efficiency of 70 %. The recovery of daughter spores was achieved with an average of 300 daughter spores per culture dish, after 6 months of inoculation.

**Index words:** *Agrobacterium rhizogenes*, Acetosyringone, GUS, micorrhizae.