

## ÍNDICE

	Pag.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Familia <i>Agavaceae</i>	3
2.2 Clasificación taxonómica de la familia <i>Agavaceae</i>	4
2.3 Origen y distribución del henequén	5
2.4 Descripción botánica del henequén	5
2.5 Ciclo de vida del henequén	8
2.6 Tipo de reproducción del henequén	9
2.7 Hábitat de la planta de henequén	9
2.8 Importancia económica del cultivo	9
2.9 Técnicas de identificación de fitopatógenos	15
2.9.1 Medios semiselectivos	15
2.9.2 Técnicas serológicas	15
2.9.3 Pruebas moleculares	16
III. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo general	20
3.2 .Objetivos particulares	20
IV. HIPÓTESIS	22
V. MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1 Material biológico	21
5.2 Métodos.	22
5.2.1 Aislamiento y purificación de agente causal	22
5.2.2 Postulados de Koch	22
5.2.3 Identificación de los probables agentes causales	23

5.2.3.1 Pruebas de diagnóstico	23
5.2.4 Pruebas bioquímicas y fisiológicas.	25
5.2.4.1 Pruebas adicionales.	25
5.2.5 Diagnóstico molecular.	27
5.2.5.1 Extracción de ADN genómico.	27
5.2.5.2 Amplificación de ADN genómico	28
5.2.5.3 Purificación de los fragmentos de PCR.	29
5.2.5.4 Secuenciación.	29
5.2.5.5 Análisis por el programa NCBI.	29
5.2.5.5 Análisis filogenético.	30
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
6.1 Ubicación de las plantas enfermas	31
6.2 Aislamiento y purificación del probable agente causal.	32
6.3 Postulados de Koch	32
6.4 Pruebas de diagnóstico	34
6.5 Pruebas bioquímicas y fisiológicas	36
6.6 Identificación a nivel de especie de la cepa PT 5 ( <i>Klebsiella</i> sp.) mediante pruebas bioquímicas.	39
6.7 Pruebas bioquímicas adicionales.	45
6.8 Análisis parcial de la región 16s rADN del aislamiento PT5.	48
6.8.1 Extracción de ADN genómico de bacterias.	48
6.8.2 Secuenciación de la región 16S ribosoma.	49
6.8.3 Análisis de la secuencia de la cepa PT5 en el programa NCBI BLAST.	50
6.8.4 Análisis por el programa Phylip.	51
VII CONCLUSIONES	53
VIII ANEXOS	54
IX REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

## Resumen

El género *Agave* es el más representativo de la familia *Agavaceae* y comprende aproximadamente 200 especies, de las cuales el 75% se encuentran en México, considerado como el centro de origen. El henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) es una especie nativa del Estado de Yucatán que ha sido cultivada, domesticada y utilizada desde tiempos prehispánicos hasta nuestros días. Como todo cultivo presenta problemas de diversa índole, siendo uno de los más importantes el de carácter fitopatológico, entre las enfermedades más comunes de la planta se encuentran la pudrición del cogollo, secadera del varejón, punta seca de la hoja, y recientemente se detectó una nueva enfermedad en la zona preferencial del cultivo de henequén denominada pudrición del tallo, la cual afecta principalmente a plantas adultas en la etapa final de producción, induciendo una pudrición acuosa en el pseudotallo que finalmente causa la muerte de la planta; estudio previos sugieren la presencia de agentes bacterianos, por lo anterior este trabajo se realizó con el objetivo de identificar a el(los) probable(s) agente(s) causal(es) de la enfermedad, para ello se aislaron y purificaron 5 cepas bacterianas, de las cuales únicamente la cepa PT5 fue positiva en la prueba de patogenicidad. Debido a esto por medio de pruebas fisiológicas y bioquímicas esta cepa se identificó como una bacteria perteneciente al género *Klebsiella*, en contraste, con el empleo de pruebas bioquímicas adicionales no se logró identificarla a nivel de especie como alguna de las bacterias ya reportadas. La secuenciación parcial de la región 16S ribosomal de la cepa PT5 y su correspondiente análisis mediante los programas NCBI/ BLAST y Phylip confirmaron el resultado de las pruebas bioquímicas y fisiológicas al identificarla como una bacteria perteneciente al género *Klebsiella* sp.