

### EMPLEO DE DGGE PARA EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE UN CONSORCIO MICROBIANO DE USO POTENCIAL COMO BIOFERTILIZANTE

Hernández Melchor Dulce J., Cañizares Villanueva Rosa O., Marsch Moreno Rodolfo, Dendooven Luc, Hidalgo Lara María E., Reyna Velarde Rodolfo, Valenzuela Encinas César. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. Depto. de Biotecnología y Bioingeniería., México, D.F., México. E-mail rcanizar@cinvestav.mx

*Palabras clave: cianobacterias, biofertilizante, DGGE*

**Introducción.** Se conoce como biofertilizante al conjunto de microorganismos que adicionan, conservan y movilizan los nutrientes en la tierra, induciendo su dirección eficaz para obtener una mejor producción de la cosecha (3). Los microorganismos utilizados como biofertilizante incluyen bacterias y cianobacterias, éstas últimas son procariones fotosintéticos que juegan un papel vital en el aumento de la fertilidad del suelo, donde la baja concentración de nitrógeno frecuentemente restringe el crecimiento de la planta. Las cianobacterias pueden vivir en forma libre, en forma de simbioses con algún tipo de planta, o formando consorcios, que consisten en un sistema de dos o más miembros, en el cual cada organismo hace algo en beneficio de otro (1).

**Objetivo.** El objetivo de este proyecto es estudiar la diversidad de un consorcio microbiano (CM) de uso potencial como biofertilizante, empleando herramientas de biología molecular.

**Metodología.** El consorcio microbiano fue aislado a partir de muestras de suelo en un campo arrocero de Alpuyecá, Morelos, México y seleccionado en base a su crecimiento y capacidad de fijación de nitrógeno. Para conocer con mayor exactitud los componentes que integran el CM, se realizó la extracción de DNA genómico utilizando la técnica modificada de Cullen y Hirsch (1998) (2), y un kit comercial (QuickGene DNA tissue kit S). Posteriormente se realizó una PCR anidada partiendo de la amplificación del rDNA 16S (~1500 pb) para conseguir fragmentos más cortos (500 pb), los cuales fueron sometidos a una electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE) utilizando un gradiente lineal desnaturalizante (urea-formamida) de 35-60%.

**Resultados y discusión.** Como resultado de la extracción se obtuvieron fragmentos de DNA íntegros y de alto peso molecular, con una mayor pureza y rendimiento utilizando el kit comercial para hacer la extracción de DNA genómico. Los productos de PCR se separaron por DGGE en un gel de poliacrilamida. En la Figura 1 se muestra el perfil de bandas obtenido mediante DGGE de las muestras A2k y M1. En total se observan 15 bandas diferentes que pudieran corresponder cada una de ellas a un componente microbiano del consorcio en estudio. La banda No.12 pertenece al phylum- Proteobacterias, Clase-Deltaproteobacterias, Subclase-Myxococcales y

representa el ~10% de los componentes presentes en el CM.

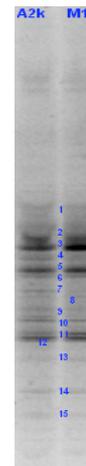


Figura 1. Perfil de bandas obtenido mediante DGGE utilizando el gradiente lineal (urea-formamida) 35-60 %. A2k-tratamiento con acetona, M1-tratamiento con metanol.

A partir del perfil de bandas se calculó el índice de Simpson (D), el cual permitió cuantificar la diversidad existente en el consorcio. Se calculó además el inverso del índice de Simpson, para conocer, aunque de manera indirecta, la cantidad de especies que conforman el consorcio (4). Los valores obtenidos fueron  $D=0.08137$  y  $1/D=12.28996$ , lo que indica que el consorcio está conformado por ~12 especies y que su diversidad es baja.

**Conclusiones.** El gradiente lineal desnaturalizante 35-60%, permitió obtener 15 bandas diferentes, las cuales probablemente correspondan cada una de ellas a un componente microbiano diferente del consorcio en estudio.

Se determinó de acuerdo al valor del índice de Simpson, que existe una baja biodiversidad de componentes en el consorcio bajo estudio.

#### Referencias

1. Brock, T. D. (1993). Microbiología. 6ª ed. Prentice Hall Hispanoamericana S. A., México. 770-773.
2. Cullen, D. W., Hirsch, P. R. (1998). Simple and rapid method for direct extraction of microbial DNA from soil for PCR. *Soil. Bio./ Biochem.* 30: 983-993
3. Goyal, S. K. (2002). A profile on Algal Biofertilizer. En: Kannaiyan, S. (Ed.) *Biotechnology of Biofertilizers*. Narosa Publishing House, New Delhi, India. 250-258.
4. Simpson, E. H. (1949). Measurement of diversity. *Nature* 163: 688