



DIVERSIDAD BACTERIANA EN LA RIZOSFERA DE TRES ESPECIES DE CACTÁCEAS DE CUICATLÁN MÉXICO.

Aguirre Garrido Félix¹, Hernández Rodríguez César², Martínez-Abarca Francisco³, Ramírez-Saad Hugo¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco, Calz. del Hueso # 1100, CP. 04960 México, DF.

²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas - IPN. México, DF. ³Estación Experimental del Zaidin - CSIC, Granada, España. Fax: 54837525, E-mail jackeasycure@yahoo.com.

Palabras clave: Electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE), Serial Analysis of Ribosomal Sequence Tags (SARST).

Introducción. La Reserva de la Biósfera de Tehuacan-Cuicatlán es rica en especies de cactáceas, muchas de las cuales son endémicas, sin embargo, hay una creciente preocupación por la pérdida de especies como resultado de la recolección desmedida, sobrepastoreo y otras actividades. La comunidad bacteriana en la rizosfera de estas plantas ha sido poco estudiada, y podría representar un factor importante en el manejo de las mismas. Los microorganismos ejercen efectos sobre el crecimiento vegetal mediante factores como la solubilización de nutrientes, fijación de N₂, y producción de metabolitos como fitohormonas, entre otros compuestos (Smalla *et al* 2001). El uso de técnicas moleculares proporcionan datos relevantes para el estudio de la diversidad microbiana en estos ambientes (Ramírez *et al*, 2003) El objetivo general del trabajo fue establecer la composición y estructura de la comunidad bacteriana asociada a la rizosfera de las cactáceas *Mammillaria carnea* (Mc), *Stenocereus stellatus* (Ss) y *Opuntia pilifera* (Op), y en suelo no rizosférico (nr), utilizando técnicas tradicionales basadas en cultivo, y moleculares como análisis del 16S rDNA en DGGE, y SARST.

Metodología Las muestras rizofericas y no rizofericas se tomaron en la zona del Tomellin, en Cuicatlan Oaxaca. Obtuvimos 40 cepas utilizando el medio para bacterias heterotrofas totales. Mediante el DGGE logramos agrupar en 21 ribotipos. Para la amplificación por PCR del 16S rDNA, se usaron los iniciadores 1492r y 8f, para la región V6-V8 el GC968f y 1401UNlr. El cálculo de la diversidad microbiana se hizo utilizando el coeficiente de Pearson. La construcción de concatámeros para SARST se realizó según Kysela *et al*, (2004).

Resultados y discusión. En la siguiente Tabla, mostramos el análisis filogenético para los 21 ribotipos

Op
Bacillus macroides 99.0%
Paenibacillus pocheonensis 95.7%
Streptomyces ginsengisoli 98.95%
*Pseudochrobactrumsaccharo*99.0%

Ss
Bacillus soli 99.3%
Arthrobacter atrocyaneus 98.0%
Micrococcus luteus 99.5%
Microbacterium trichotecenol 98.6%
Leifsonia shinshuensis 99.7%
Acinetobacter radioresistens 98.7%
Acinetobacter calcoaceticus 99.6%

Nr
Bacillus megaterium 99.4%
Arthrobacter globiformis 99.0%
Arthrobacter ramosus 98.2%
Massilia aerolata 97.2%
Herbaspirillumautotro 98.0%

Mc
Bacillus muralis 99.4%
Arthrobacter globiformis 99.7%
*Acinetobactercalcoacetic*99.7%
Pseudomonas parafulva 99.6%
Rhizobium huautlense 99.1%

Tabla 1. Análisis de secuencias del gen ribosomal 16S se muestra el porcentaje de similitud que se obtuvo con el programa MEGA.

Es importante resaltar la presencia de los phylum Firmicutes y Actinobacteria en todas las muestras. Con el DGGE encontramos diferencias en los perfiles de metagenoma como lo mostramos en la Figura 1.

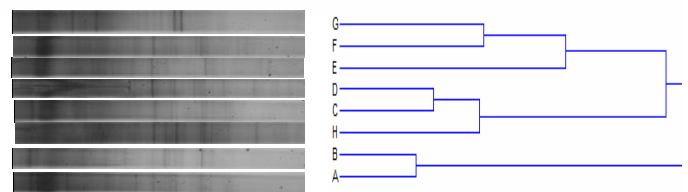


Fig.- 1 A- nr, B- nr, C- Mc, D- Mc, E- Ss, F- Ss, G- Op y H- Op.

En la Figura 2 basados en SARST, los phylum más representativos son Actinobacteria, Proteobacteria y Acidobacteria.

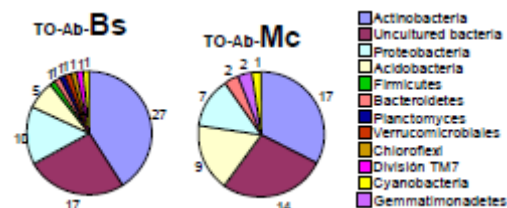


Fig.-2 To-ab-Bs muestra de suelo no rizosférico, To-ab.Mc muestra de rizosfera de Mammillaria carnea.

Conclusiones. Con el uso del DGGE encontramos diferencias en los perfiles para las muestras rizofericas y no rizofericas. Con el SARST y el análisis de la secuencias del ribosomal 16S los géneros en mayor proporción pertenecen a actinomycetos, acidobacterias y proteobacterias, el uso de ambos enfoques complementa los resultados y es importante resaltar al genero *Bacillus* que se encuentra en todas las muestras y puede representar efectos importantes en el crecimiento de las cactáceas.

Agradecimiento A la Fundación BBVA través del proyecto BIOCON 04-084

Bibliografía.

Ramírez Saad, H.C., A. Sessitsch, and A.D.L. Akkermans (2003) Molecular Diversity in the Bacterial Community and the Fluorescent Pseudomonads Group in Natural and Chlorobenzoate-Stressed Peat-Forest Soil. *Microbiol. Research* **158**:47-54
Smalla K., G. Wieland, A. Buchner, A. Zock, J. Parzy, S. Kaiser, N. Roskot, H. Heuer, and G. Berg 2001. Bulk and Rhizosphere Soil Bacterial Communities Studied by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis: Plant-Dependent Enrichment and Seasonal Shifts Revealed Germany *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**:4742-4751