



IDENTIFICACION DE BACTERIAS NODULANTES ASOCIADAS A LEGUMINOSAS SILVESTRE EN EL ESTADO DE CHIAPAS

José A. De León-Martínez, Ricardo Sánchez-Cruz, Gustavo Yañez-Ocampo, Ana L. Reyes-Reyes, Saúl Espinosa-Zaragoza, Arnoldo Wong-Villarreal. Universidad Tecnológica de la Selva, División Agroalimentaria, Ocosingo, Chiapas, C.P. 29950, wova79@hotmail.com

Palabras clave: Burkholderia, nódulos, leguminosas.

Introducción.

Las leguminosas son ricas en proteínas tanto para la alimentación humana como para el ganado. Existen casi 19, 000 especies de leguminosas (Allen & Allen, 1980), la mayoría aún no aprovechadas por el hombre. Sólo se conoce lo simbioses para alrededor el 1% de las leguminosas que forman nódulos fijadores de nitrógenos (Martínez-Romero & Caballero-Mellado, 1993). Se ha generado gran conocimiento sobre rhizobia que se ha centrado en uno tres o cuatro especies, en cambio, existe gran desconocimiento sobre la biodiversidad global de estas bacterias. Cada vez es más evidente que la diversidad de leguminosa es acompañado por la diversidad de las bacterias nodulantes. Las leguminosas son cultivos claves en la agricultura ya que enriquecen al suelo de nitrógeno cuando tienen nódulos fijadores de nitrógeno.

Identificar bacterias de nódulos de leguminosas silvestres del estado Chiapas.

Metodología. Se colectaron diferentes especies de leguminosas en 9 municipios del estado de Chiapas, se aislaron los microorganismos de los nódulos en los medios de cultivos YMA, PY y BAc. Los Aislados fueron caracterizados mediante pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares. También se realizaron la amplificación con oligonucleótidos para los genes nifH, nodA y nodC, a los aislados se les realizaron pruebas de crecimiento en compuestos xenobiótico, tolerancia a salinidad y temperatura.

amplificaron un producto de 124 pbs del gene 16S rADN para Cupriavidus, ninguna cepa amplifico con los oligonucleótidos para Rhizobium. Las 124 cepas restante no amplificaron con ninguno de los oligonucleótidos. Cada conjunto de cepas agrupadas por genero fueron analizadas con la técnica de BOX-PCR (Fig. 1), se obtuvieron diferentes perfiles en cada uno de los generos (Fig.1). 213 amplificaron con los oligonucleótidos para los genes nifH, 36 con para los genes nodC, 1 con nodA. En la prueba de tolerancia a salinidad 124 cepas crecieron a 4 %, 224 cepas tolerantes a temperaturas de 45 °C, mientras que en presencia de fenol al 0.1% crecieron 3 cepas, en benceno al 0.1 % 150 cepas.

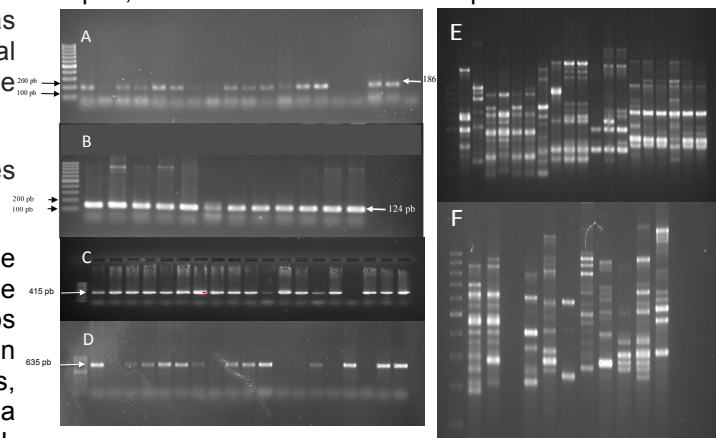


Fig 1. Productos de amplificación de PCR de las cepas aisladas de leguminosas A) Genero Burkholderia B) Genero Cupriavidus, C) Genes nodC, D) Genes nifH, E) Agrupación por BOX-PCR de las cepas de Burkholderia, F) Agrupación por BOX-PCR de las cepas de Burkholderia,

Conclusiones. Se aislaron 370 cepas de los nódulos de leguminosas silvestre, 189 amplificaron con los oligonucleótidos para Burkholderia, 38 para el genero Cupriavidus y 124 no amplificaron, a las cepas se le detectaron la presencia de genes nodC y nifH.

Bibliografía.

Allen,O.N, Allen, E.K. (1980). The Leguminosae; a source book of characteristics, uses, and nodulation. The University of Wisconsin Press, Madison, WI.
Martínez-Romero E, Caballero-Mellado J. (1996). *Rhizobium* phylogenies and bacterial genetic diversity. Crit. Rev. Plant Sci. 15:113-140.

Agradecimiento. CONACyT, Fondo Sectorial Ciencia Básica por el apoyo al proyecto de investigación 179540

Sitio	Medios de Cultivo.			Rangos de pH de suelos
	PY	YMA	BAc	
TAP	42	74	17	5.3 – 8.7
MAZ	14	32	17	5.4 – 7.4
HUE	4	7	6	5.2 – 7.1
HUX	16	22	6	7.0 – 7.9
MAP	7	10	3	6.2 – 8.5
PIJ	3	6	0	5.8 – 6.8
TON	16	30	29	7.0 – 7.8
OCO	3	3	0	7.0 – 8.0
HUI	1	2	0	7.5 – 8.2
	106	186	78	

TAP: Tapachula, MAZ: Mazatlan, HUE: Huehuetan, HUX: Huixtla, MAP: Mapastepec, PIJ: Pijijapan, TON: Tonala, OCO: Ocosingo, HUI: Huixtlan.

Resultados. Se aislaron 370 en los diferentes medios (Tabla 1). Todas las cepas fueron gram negativas, crecimiento negativo en medio Macconkey, las 370 cepas fueron agrupadas mediante el uso de oligonucleótidos para los generos Burkholderia, Cupriavidus y Rhizobium. 189 cepas amplificaron un producto de PCR de 186 pbs del gene 16S rADN para Burkholderia, 38 aislados