



CRECIMIENTO DE *Azotobacter nigricans* EN LA RIZOSFERA DE LA ALFALFA CONTAMINADA CON QUEROSENO EN SISTEMAS “GROWTH POUCH”

Gabriela García E.*, Virginia Martínez R., Ronald Ferrera-Cerrato, Refugio Rodríguez V., Graciano Calva-Calva; Luis Fernández-Linares y Fernando Esparza G. * *Depto. Biotecnología. CINVESTAV-IPN. Tel. 5061 3800 ext. 4330. Fax 50-61-3313, e-mail: gesquive@cinvestav.mx*

Palabras Clave: *Azotobacter*, fijación de nitrógeno, growth pouch, fitorremediación, *Medicago sativa*.

Introducción. *Azotobacter* se ha aislado de la rizosfera de algunas plantas como frijol y pasto alemán crecidos en presencia de hidrocarburos del petróleo (1). Lo que provee un paradigma interesante para estudiar la relación planta-microorganismo-contaminante y su interacción con la fase mineral del suelo (2). Por tanto, se requiere de la simplificación de sistemas de estudio para el control de variables involucradas lo cual nos ofrece los sistemas “Growth Pouch”, o bolsas de crecimiento, que consisten de una bolsa de poliéster y un soporte de papel absorbente que permite la capilaridad y la distribución del agua y los nutrientes disueltos en toda la superficie (3). Por tanto es nuestro interés realizar los estudios del comportamiento de *Azotobacter* en la rizósfera de plantas de la alfalfa (*Medicago sativa*) en estos sistemas contaminados con queroseno.

Metodología. Los ensayos se llevaron a cabo bajo cuatro diferentes concentraciones de queroseno. Se utilizaron semillas de alfalfa (*Medicago sativa*), se desinfectaron y germinaron en agar agua, posteriormente se transfirieron a las bolsas de crecimiento dentro del canal formado por el doblez del papel. Se utilizó medio Jensen como solución nutritiva (4), en dos bloques uno de ellos adicionando $\text{KNO}_3/\text{NH}_4\text{NO}_3$ y otro sin la adición de fuente de nitrógeno. El inoculo se preparó con *Azotobacter nigricans* proveniente de la rizosfera de fríjol, se cultivó a 28°C durante 24h a 150rpm en 50ml de medio Rennie (5).

Resultados y Discusión. La alfalfa es capaz de germinar en presencia de queroseno en concentraciones de 0ppm con (78%), 2500 ppm (72%), 5000 ppm (58%) y 7500 ppm (56%), observando que la germinación disminuye cuando incrementa la concentración del contaminante. El desarrollo de la planta se ve favorecido cuando esta presente *A. nigricans* en medio Jensen sin nitrógeno, infiriendo que el microorganismo esta proporcionando la fuente de nitrógeno a la planta. Por otro lado en la figura 1 se presenta el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en las bolsas de crecimiento, mostrando que al aumentar la concentración de queroseno, disminuye el crecimiento de *A. nigricans*.

Las propiedades químicas y bioquímicas que se crean en la zona de la raíz, favorecen el establecimiento de ambientes adecuados para la biodegradación de contaminantes recalcitrantes(6), observando que el crecimiento de *A. nigricans* se ve favorecido por la presencia de la alfalfa, Además el desarrollo es mayor aún, cuando no se adiciona

fuelle de nitrógeno, posiblemente se ve estimulada por la planta para reproducirse. Los exudados son el enlace entre las plantas y los microorganismos que conducen al efecto rizosférico, por tanto al no haber este efecto en los sistemas sin planta, el crecimiento de *Azotobacter* no se ve favorecido.

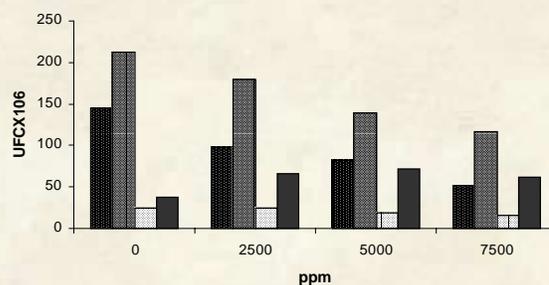


Figura 1. Crecimiento de *A. nigricans* en los sistemas en presencia de la alfalfa (*Medicago sativa*) con nitrógeno □ sin nitrógeno ▨; sistemas sin planta con nitrógeno ▩ y sin fuente de nitrógeno ■.

Conclusiones.

La alfalfa (*Medicago sativa*) es capaz de crecer en sistemas growth pouch en presencia de queroseno promoviendo el desarrollo de *A. nigricans*.

Agradecimientos

Apoyo financiero: CONACYT-124460

Bibliografía

- García E. G., Ferrera-Cerrato, Calva C. G., Fernández L. L.; Rodríguez V. R. y Esparza G. F. 2001. Presencia de *Azotobacter* en la rizósfera de plantas crecidas en suelos contaminados con hidrocarburos. *IMEBE*. CINVESTAV-IPN, México, D.F.
- Walton, B.T. and Anderson, T.A. 1992. Plant-microbe treatment systems for toxic waste. *Current Opinion in Biotechnology*. 3:267-270.
- Aveline A., Crozat, Cleyet-Marel and X. Pinochet, 2003. Bacterial growth rate and growth rate and growth pouch nodulation profile differences as possible ways of *Bradyrhizobium japonicum* strain screening for low P soils. *Plant and Soil* 251: 199-209.
- George E. F. Puttock D.J.M. and George H.J. 1981. Plant culture Media. Formulations and uses. Vol 1. 480pp.
- Rennie, R J, 1981. A single medium for the isolation of acetylene-reducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Can. J. Microbiol.* 27:8-14.
- Hegde y Fletcher 1996. Influence of plant growth stage and season on the release of root phenolics by mulberry as related to development of phytoremediation technology. *Chemosphere* 32: 2471-2479.