



## ESTABLECIMIENTO DE *AZOTOBACTER* EN LA RAÍZ DE LA ALFALFA EN UN AMBIENTE CONTAMINADO CON QUEROSENO

Gabriela García E.\*, Victoria T. Velásquez Martínez, 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*, Alfalfa, queroseno, pelos radicales

**Introducción.** Las bacterias fijadoras de nitrógeno influyen en el crecimiento y desarrollo de la planta, incluso algunas veces incrementan el rendimiento ya que además de fijar nitrógeno se les atribuye la capacidad de sintetizar sustancias promotoras del crecimiento tales como auxinas, giberilinas, citoquininas y ácido indol acético, tal es el caso de bacterias del género *Azotobacter* (1; 2). Desafortunadamente el conocimiento de colonización de las raíces por bacterias es frecuentemente analizada usando métodos convencionales como técnicas de dilución en placa (3) no dando información completa como es la distribución a través de la rizosfera. Por tanto, se utilizó el método de Farhaeus para conocer la interacción física que existe entre *Azotobacter* y la raíz de las plantas, simplificado las múltiples variables que pueden encontrarse en el suelo y acercarnos a la realidad del microcosmos de una rizosfera.

**Metodología.** Las semillas de Alfalfa fueron desinfectadas y germinadas en agar agua por 48 h en oscuridad. Las plántulas desarrolladas se transfirieron a sistemas de Farhaeus (4) utilizando portaobjetos como soporte y medio Jensen (5) sin fuente de nitrógeno. A una serie de sistemas se les adicionó queroseno en una concentración del 1% y otra serie se mantuvo sin contaminante. Se inocularon los sistemas con *Azotobacter nigricans*, aislada de la rizosfera de plantas de frijol contaminada con queroseno. Los sistemas se incubaron a temperatura ambiente y fotoperíodos de 12 h. Después de los períodos de incubación se eliminó el exceso de solución del portaobjeto con la plántula y se realizaron cortes de la raíz lavándolas con solución tampón de fosfato a pH 7.2. Se fijaron con glutaraldehído (3%) y tetróxido de osmio (3%). Se deshidrataron con etanol y se secaron al punto crítico con CO<sub>2</sub>. Las muestras se colocaron en una base para su baño de oro y se realizaron observaciones al microscopio de barrido.

**Resultados y Discusión.** En relación al proceso mediante el cual se lleva a cabo la asociación entre bacterias y plantas, hay muchas incógnitas, no obstante, es bien conocido el papel que esta asociación representa en la rizosfera y la importancia de los exudados de la raíz tal como el mucílago, que está en contacto con los microorganismos del suelo y del cual depende la presencia o ausencia de bacterias (6). El mucílago puede albergar bacterias fijadoras de nitrógeno (7) tal como se observó por microscopía electrónica de barrido, *Azotobacter nigricans* se adhiere a los pelos radicales en la parte superior (figura 1) por medio de un material fibrilar,

aumentando la cantidad de este material en presencia de queroseno.

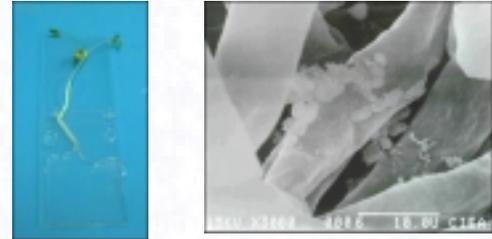


Figura 1. Micrografía de la raíz de la Alfalfa crecidas por el Método de Farhaeus en medio Jensen, con *A. nigricans* y queroseno a 6 días de incubación.

Lo anterior muestra la extraordinaria asociación de *A. nigricans* con la alfalfa en la zona rizosférica, donde la planta le proporciona nutrientes al microorganismo. Así mismo esta bacteria presenta la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, remover el queroseno (8) y sintetizar indol acético (1), ofreciendo un beneficio indirecto para la planta

### Conclusiones.

El efecto rizosférico entre la alfalfa y *A. nigricans*, se establece como asociaciones benéficas en presencia de queroseno debido a la capacidad de esta bacteria para remover el queroseno

### Agradecimientos

Apoyo financiero: CONACYT-124460

### Bibliografía

1. Subba Rao N.S. 2001. In: Soil Microbiology. Eds: Subba Rao N.S. Science Publishers, Inc. Enfield (NH), USA. pp116-140.
2. Taller, B.J. and T.Y. Wong. 1989. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 266-267.
3. Kloepper JW, Beauchamp CJ. 1992. *Can J Microbiol* **38**: 1219-1232
4. Farhaeus G., 1975. *J. Gen Microbiol.* **16**:374-381.
5. George E. F. Puttock D.J.M. and George H.J. 1981. Plant culture Media. Formulations and uses. Vol 1. 480pp.
6. Levanov H., Y. Bashn, B. Romano and E. Klein. 1989. *Plant and Soil* **117**: 207-218
7. EI-Shatnawi M.K. J. and I.M. Makhadmeh. 2001. *J. Agronomy and Crop Science* **187**: 1-9.
8. García E.G., V.V.M., R. F-C., R. R. V., G. C. C.; L.F.L., y F.E.G. 2005. XI Congreso de Biotecnología y Bioingeniería, Mérida, Yucatán.