

ESTUDIO DE LA COMUNIDAD BACTERIANA EN LA RIZOSFERA DE CACTÁCEAS DEL VALLE DE TEHUACÁN-CUICATLÁN

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

¹Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco, Calz. del Hueso # 1100, C.P. 04960 México, D.F. ²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas - IPN. México, D.F. ³Estación Experimental del Zaidin - CSIC, Granada, España.
Fax: 54837525, E-mail jackeasycure@yahoo.com.

Palabras clave: Electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE), DNA metagenómico.

Introducción. La Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán creada en septiembre de 1998, abarca 4,897 km², en los cuales hay 307 poblados y 35,500 habitantes, aproximadamente. La reserva es especialmente rica en especies de cactáceas, muchas de las cuales son endémicas. Actualmente hay una creciente preocupación debido a la recolección desmedida de algunas especies, así como por la deforestación de las zonas áridas que pueden llevar a procesos de desertificación y una consecuente pérdida de diversidad biológica (Huenneke y Noble, 1996) El manejo biológico de las cactáceas es escaso, y en la mayoría de los casos no se contempla en absoluto la microbiota asociada a sus raíces

El objetivo general del trabajo fue evaluar la biodiversidad bacteriana asociada a la rizosfera de las cactáceas *Mammillaria carnea*, *Stenocereus stellatus* y *Opuntia pilifera* y distinguir grupos funcionales específicos de cada especie, utilizando técnicas microbiológicas y moleculares.

Metodología. Se llevaron a cabo dos muestreos, uno en la estación seca (abril 2006) y otro en la temporada de lluvias (septiembre 2005), 2 ejemplares por especie de cactácea y 2 muestras de suelos no rizosfericos. El conteo de microorganismos viables reportado en UFC se utiliza comúnmente para el análisis de muestras del suelo. (Lorch *et al*, 1995). El medio que se utilizó fue el medio rico nutritivo para heterótrofas aerobias (TY). Se realizó la extracción de DNA metagenómico de las muestras rizosfericas por ruptura mecánica. Para la amplificación por PCR de la región variable V6-V8 del gen 16SrRNA se usaron los iniciadores 1401 UNI rev y 968GC for. El cálculo de la diversidad microbiana se realizó por electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE) según Ramírez-Saad (2003)

Resultados y discusión. Como se aprecia en la Tabla 1, encontramos diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la cuenta de bacterias viables entre la muestras rizosfericas y las muestras no rizosfericas para la temporada de lluvias, diferencias que no encontramos entre las muestras en la temporada seca.

Muestra	Cuenta de Viables Medio TY		Cuenta de Viables Medio Fijadores	
	(UFC's /g rizosfera) Lluvia	(UFC's /g rizosfera) Seco	(UFC's /g rizosfera) Lluvia	(UFC's /g rizosfera) Seco
TOBs	7.6E+06	2.6E+06	1.83E+05	8.00E+06
TOMc	6.0E+08	5.7E+06	1.33E+07	4.43E+06
TOOp	5.7E+08	4.5E+06	1.93E+07	3.20E+06
TOSs	6.1E+08	5.4E+06	1.63E+07	3.43E+06

Tabla.- 1 Cuenta de viables para las tres cactáceas y las muestras no rizosfericas, TOBs = suelo no rizosferico, TOMc = rizosfera de *Mammillaria carnea*, TOOp = rizosfera de *Opuntia pilifera*, TOSs = rizosfera de *Stenocereus stellatus* utilizando medio para bacterias heterótrofas totales y fijadoras de nitrógeno

Para estimar la diversidad bacteriana presente en las rizosferas de las tres cactáceas y el suelo no rizosferico

utilizamos la técnica de (DGGE), la Figura 1 nos muestra un gel de DGGE, con amplicones de la región V6-V8 del 16S rDNA. Cada banda la asociamos a la presencia de una especie bacteriana diferente.

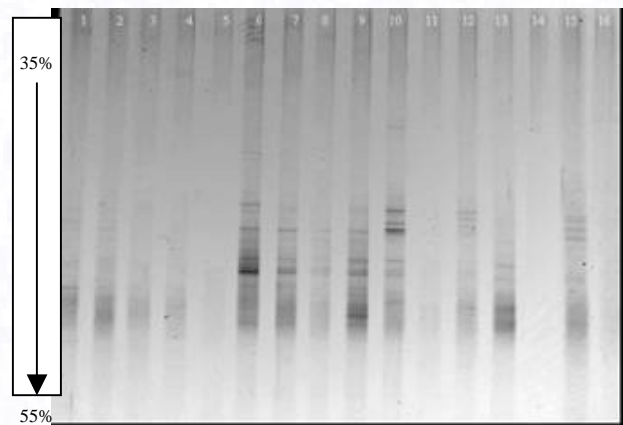


Fig.-1 DGGE con un porcentaje de desnaturización del 35 al 55% del carril 1 al 4 DNA metagenómico de suelo no rizosferico, del carril 6 al 16 muestras de las tres cactáceas.

Conclusiones. Las cuentas de bacterias viables en ambos medios para la temporada de lluvias mostró diferencias significativas entre las muestras de suelo no rizosferico y las muestras de suelo rizosferico, de las tres cactáceas en estudio, siendo mayor el numero para las rizosferas de las tres cactáceas. Para las cuentas de bacterias viables en la temporada seca no encontramos estas diferencias. Con el DGGE estimamos cualitativamente una mayor diversidad bacteriana en las muestras rizosfericas.

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

Bibliografía. Handelsman, J., M. Liles, D. Mann, C. Riesenfeld and R. M. Goodman. 2002. Cloning the metagenome: culture independent access to the diversity and functions of the uncultivable microbial world. *Methods in Microbiology*. Vol. 33. Functional genomics. Wren, B. and N. Dorrel, (eds). Academic Press. Amsterdam, The Netherlands. 241-255
Huenneke, L., & I. Noble. 1996. Ecosystem function of diversity in arid ecosystems. En Mooney H. A., Cushman J.H, Medina, E., Sala, O. E., & Schulze, D (Eds.). *Functional roles of biodiversity: a global perspective*. SCOPE series 55. John Wiley & sons, New York, 99-128.

Lorch, H.J. Benckieser, G. Ottow, J.C. (1995). Basic methods for counting microorganisms in soil and water. En: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, Ltd. USA. pp 120-127.

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