



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



ESTUDIO DEL EFECTO DE LAS RAÍCES DEL CEMPOALXÓCHITL (*Tagetes spp*) EN LA DIVERSIDAD DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO.

Edgar López-López, Alma Patricia Maqueda-Gálvez, Miguel Angel Anducho-Reyes, Universidad Politécnica de Pachuca, Laboratorio de Microbiología Molecular, Carr. Pachuca-Cd. Sahagún, Km. 20, Rancho Luna, Ex-Hacienda de Sta. Bárbara, Mpio. de Zempoala, Hgo., C.P.43830. Email: e_lopez_87@hotmail.com

Palabras clave: *Tagetes*, rizosfera, DGGE.

Introducción.

La rizósfera se define como la parte del suelo que tiene contacto con las raíces de las plantas. Este ecosistema está altamente influenciado por la excreción de exudados radiculares ricos en fuentes de carbono, que determinan, afectan y modifican la dinámica poblacional de las comunidades microbianas (1). Uno de los casos más interesantes es la rizosfera de plantas antagónicas, en donde se ha descrito, se liberan fitoquímicos tóxicos contra microorganismos fitopatógenos (2). No obstante, debido a la dificultad metodológica para separar a los microorganismos y la rizósfera, y de esta forma asignar actividades transformantes específicas, la mayor parte de la evidencia experimental apoya más la hipótesis del efecto rizósfera. De esta forma, en varias investigaciones, donde se ha utilizado a la planta antagónica *Tagetes spp.* (Cempoalxóchitl), ha sido sobresaliente su actividad nematocida a nivel de rizósfera explicada por medio de procesos bioquímicos y mecánicos (3). Sin embargo, poco se conoce de las relaciones que existen entre las comunidades microbianas y las raíces de las plantas del género *Tagetes*, específicamente si existe una comunicación planta-bacteria que pudiera potenciar su actividad nematocida.

El objetivo de éste trabajo es determinar, con el uso de técnicas moleculares, el efecto que tienen las raíces de tres especies de *Tagetes spp.* en la dinámica poblacional microbiana de suelo rizosférico.

Metodología. Las especies de *Tagetes terniflora*, *T. remotiflora* y *T. coronopifolia* fueron cultivadas en suelo proveniente de la región de La Vega de Metztlán, Hgo. y mantenidas bajo condiciones controladas de invernadero. Para conocer las características fisicoquímicas del suelo, se utilizó el kit LaMotte Deluxe Truf Lab. La extracción de DNA rizosférico se realizó con muestras obtenidas a los 0, 30, 60 y 90 días con el método propuesto por Cullen y Hirsch (4) y su purificación usando los kits comerciales AxyPrep Genomic DNA Miniprep y ZR Soil Microbe DNA MiniPrep. Se utilizaron iniciadores de la región variable V3 16SrDNA y 18SrDNA para la amplificación por PCR de diferentes especies moleculares en las comunidades de microbianas. Los perfiles moleculares de las poblaciones microbianas se visualizarán utilizando la técnica de Electroforesis en Geles Desnaturalizantes con Gradiente (DGGE).

Resultados. El análisis fisicoquímico del suelo mostró las siguientes características: un pH neutro con niveles medio de nitrógeno (5.6 g/m^2) y potasio (17.9 g/m^2), un nivel mínimo de fósforo (0.6 g/m^2) y una textura de suelo franco-arcillo-arenoso. Hasta el momento, se tienen un total de 24 muestras de suelo colectadas a los 0, 30, 60 y 90 días y provenientes de las tres especies de *Tagetes*. El DNA metagenómico extraído presentó pesos moleculares de $>10 \text{ Kb}$ con concentraciones de 250 ng/0.5 g de suelo, lo que indica que es apto para PCR. La amplificación por PCR de la región variable V3 del gen 16SrDNA se realizó mediante un programa de "Touchdown", el cual consistió en aumentar la temperatura de alineamiento 0.5°C cada ciclo (Figura 1).

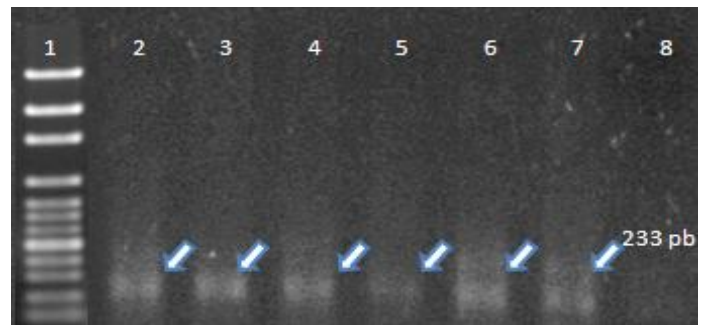


Fig. 1. Productos de PCR. Marcador molecular de 3,000 pb (1), ADN metagenómico de muestra de suelo rizosférico (2 a 6), ADN de *E. coli* como control positivo (7) y Agua como control negativo (8).

Conclusiones. El rendimiento, la calidad y pureza del DNA metagenómico extraído de las raíces de las tres especies de *Tagetes*, fue el adecuado para realizar amplificaciones del gen V3 16SrDNA por PCR.

Bibliografía.

1. Johnson, A.W., Dowler, C.C., Baker, S.H., Handoo, Z.A. (1998). *Crop yields and nematode population densities in triticale-cotton and triticale-soybean rotations*. *Journal of Nematology* 30 (3):353-361.
2. Chitwood, D.J. (2002). *Phytochemical based strategies for nematode control*. *Annual of Review in Phytopathology* 40:221-49.
3. Zygadlo, J.A., Guzman, C.A., Grosso, N.R. (1994). *Antifungal properties of the leaf oils of Tagetes minuta L. and T. filifolia Lag.* *Journal of Essential Oil Research* 6 :617-621.
4. Cullen, D.W., Hirsch, P.R.1998. A simple and rapid method for direct extraction of microbial DNA from soil for PCR. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 983-993.