

USE OF 16S rRNA GENE FOR CHARACTERIZATION OF PHOSPHATE-SOLUBILIZING BACTERIA ASSOCIATED WITH CORN

USO DEL GEN 16S rRNA PARA CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATOS ASOCIADAS AL MAÍZ

David Espinosa-Victoria^{1*}, Lucía López-Reyes² y Aldo De La Cruz-Benítez¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. Tel. and Fax 01 (595) 951-0170. ²Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 01622, Puebla, México.

* Corresponding author (despinos@colpos.mx)

RESUMEN

Se caracterizaron fenotípica y genóticamente 36 cepas de bacterias solubilizadoras de fosfato (BSP), aisladas de la rizosfera y rizoplano del maíz (*Zea mays* L.) en diferentes estados de México. Primeramente, se evaluó la capacidad de cada cepa para solubilizar fosfato, empleando fosfato tricálcico como fuente de fósforo en el medio de cultivo NBRIP-BPB. También, se evaluó su capacidad solubilizadora de fosfato pero adicionando al medio el amortiguador de pH MES (2-[Morfolino] ácido etanosulfónico). El análisis de patrones de restricción de ARN ribosomal amplificado (ARDRA) fue empleado para el estudio de la diversidad genética. A partir de la matriz generada, se construyó un dendrograma por el método UPGMA. El gen 16S rRNA de las cepas BUAP29, BUAP36 y CP08 fue amplificado, clonado y secuenciado para su clasificación taxonómicamente. Las 36 cepas bacterianas presentaron diversos niveles de actividad solubilizadora de fosfato tricálcico. Solamente las cepas BUAP33, BUAP17 y BUAP21 no presentaron el típico halo de solubilización cuando se adicionó al medio el amortiguador MES. El análisis de los patrones ARDRA así como el dendrograma mostraron una gran diversidad genética entre las 36 BSP analizadas, donde solamente las cepas BUAP36 y BUAP15 exhibieron 100% de similitud. El alineamiento de las secuencias del gen 16S rRNA de las cepas CP08, BUAP29 y BUAP36 presentó 99% de identidad con las secuencias de *Advenella incenata* cepa R-16599 (con número de acceso AY569458.1 en NCBI), *Burkholderia* sp (con número de acceso AY353696 en NCBI) y *Burkholderia gladioli* cepa 223-1 (con número de acceso DQ355168.1 en NCBI), respectivamente. En el presente estudio se reporta por primera vez a *A. incenata* como una BSP.

Palabras clave: ARDRA, bacterias solubilizadoras de fosfato, diversidad genética, 16S rRNA.

SUMMARY

Thirty-six strains of phosphate-solubilizing bacteria (PSB) isolated from the rhizosphere and rhizoplane of corn (*Zea mays* L.) crops in different states of México were subjected to phenotypic and genotypic characterization. The phosphate-solubilizing activity of each strain was first evaluated using tricalcium phosphate as the phosphorus source in the NBRIP-BPB culture medium. Phosphate-solubilizing capacity was also evaluated by adding the pH buffering agent MES (2-[Morpholine] ethanesulfonic acid) to the growth medium. Amplified ribosomal RNA restriction pattern analysis (ARDRA) was used to evaluate the genetic diversity. From the data matrix obtained, a dendrogram was built using the UPGMA method. The 16S rRNA gene of the BUAP29, BUAP36 and CP08 strains was amplified, cloned and sequenced for taxonomic identification. The 36 bacterial strains exhibited different levels of tricalcium phosphate solubilizing activity. Only BUAP33, BUAP17 and BUAP21 strains did not show the typical solubilization halo when the MES buffering agent was added to the growth medium. The analysis of ARDRA patterns as well as the dendrogram exhibited a large genetic diversity among the 36 PSB analyzed, with BUAP36 and BUAP15 strains showing 100 % similarity. The 16S rRNA gene sequence alignment of CP08, BUAP29 and BUAP36 strains showed 99 % identity with the sequences of *Advenella incenata* strain R-16599 (NCBI accession number AY569458.1), *Burkholderia* sp (NCBI accession number AY353696) and *Burkholderia gladioli* strain 223-1 (NCBI accession number DQ355168.1), respectively. In this study the *A. incenata* strain is reported as a PSB for the first time.

Index words: ARDRA, genetic diversity, phosphate-solubilizing bacteria, 16S rRNA.