

DISTINTAS FORMAS MOLECULARES DE MALATO DESHIDROGENASA EN EPIMASTIGOTES DE *TRYPANOSOMA CRUZI* Giselle Reynoso Hunter, Juan J. Cazzulo y Cristina Nowicki. - IQUIFIB-Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA e Instituto de Investigaciones Biotecnológicas Universidad Nacional de General San Martín.

En *T. cruzi*, se describió la presencia de dos isozimas de malato deshidrogenasa (MDH) con la misma masa molecular (70 kDa), una de ellas mitocondrial y la otra glicosomal. Recientemente detectamos actividad de MDH en fracciones de alto peso molecular e iniciamos su estudio para comprobar si correspondían a nuevas isoformas aún no descritas. El sobrenadante obtenido luego de congelar y descongelar las células varias veces al igual que el obtenido después de sonicar el precipitado residual se cromatografió por separado en Red-Sepharosa 120 equilibrada con buffer de fosfatos 20 mM, pH 7.8. Para la elución se utilizó un gradiente de KCl. A partir de cada uno de los sobrenadantes se obtuvieron dos fracciones con actividad de MDH, eluyendo una de ellas con 200 mM y la otra con 1M de KCl aproximadamente. Las isozimas eluidas a menor fuerza iónica se purificaron hasta homogeneidad en SDS-PAGE donde se comportaron como bandas de 35 kDa y en condiciones nativas presentaron una masa molecular de 70 kDa. Las eluidas con 1 M KCl poseen, en condiciones nativas, una masa molecular de 150 kDa y en SDS-PAGE se comportan como bandas de 35 kDa. Las MDHs de bajo peso molecular poseen reactividad inmunológica cruzada frente un antisuero de conejo obtenido contra una de ellas, sin embargo en las mismas condiciones las MDHs de alto peso molecular no son reconocidas por dicho antisuero. Las secuencias de aminoácidos en la región del extremo N-terminal indicaron diferencias entre las MDHs de 70 kDa y 160 kDa aunque todas mostraron alta homología con diversas MDHs. Se encontraron diferencias menores en los mapas peptídicos de las MDHs de 70 kDa las que sugieren pequeñas diferencias estructurales para ambas enzimas. Estos resultados demuestran la presencia en *T. cruzi* de al menos dos isozimas de MDH, pudiendo ser una de ellas tetramérica. En muy pocos organismos, solo en algunas plantas, se describió MDHs de tan alto peso molecular.

Caracterización simbiótica de rizobios noduladores de alfalfa aislados en suelos ácidos de Argentina.

Del Papa, M. F., L. J. Balagué⁽¹⁾, M. De Giusti⁽²⁾, O. M. Aguilar⁽¹⁾ y A. Lagares⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Instituto de Bioquímica y Biología Molecular (IBBM), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Calles 47 y 115, 1900-La Plata, e-mail: lagares@biol.unlp.edu.ar

⁽²⁾ ISTECS, Departamento de Fisicomatemática, Facultad de Ingeniería, UNLP.

En comunicaciones anteriores hemos descrito la estrategia utilizada para el aislamiento de rizobios noduladores de alfalfa de suelos ácidos locales, su caracterización genética preliminar, y el estudio de propiedades de tolerancia a la acidez en medios artificiales en condiciones de laboratorio (SAIB 1996). Dicho análisis permitió diferenciar claramente dos grupos de rizobios noduladores de alfalfa distintos respecto al rango de hospedadores, capacidad fijadora de nitrógeno, y tolerancia a la acidez. Las cepas de *S. meliloti* (*Sme*) resultaron levemente ácido tolerantes (pH 6,0) pero eficientes fijadoras de nitrógeno. Contrariamente, aislamientos de *R. spp.* genéticamente relacionados a la cepa previamente descrita Or191 resultaron muy ácido tolerantes (pH 5,0) pero ineficientes. En el presente trabajo hemos analizado en detalle las propiedades de nodulación y competitividad a diferentes pHs, de cepas representativas de cada uno de los grupos de rizobios previamente caracterizados. Las cepas seleccionadas fueron: *Sme* LPU63 (aislamiento de un suelo ácido local), *R. spp.* LPU83 (ácido tolerante-tipo Or191), y *Sme* 2011 (cepa control). Para los ensayos de nodulación se utilizaron bolsas plásticas con solución nutritiva para plantas ajustada a pH 7.0 y 5.6. Se realizaron ensayos de simple y doble inoculación utilizando 100 plantas de alfalfa var. CUF101/tratamiento. Los valores de peso seco de la parte aérea de la planta correspondientes a la cepa ácido tolerante LPU83 fueron los más bajos. En los tratamientos de coinoculación se observó que la cepa LPU63 inoculada con la cepa LPU 83 ocupa aprox. 100% de los nódulos en condiciones de neutralidad y decae a valores cercanos a 50% en condiciones de acidez. Además, para la cepa LPU63 no se observaron variaciones marcadas del peso seco de las plantas entre los tratamientos de simple y doble inoculación a bajo pH. Derivado de la muy buena capacidad infectiva y fijadora de la cepa LPU63 en condiciones de laboratorio a pHs (moderadamente) bajos, hemos iniciado la evaluación simbiótica de dicha cepa en muestras de suelo ácido y a campo.