

# III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental



25 al 27 de noviembre de 2015  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires  
Auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias  
UCA-Palermo

## PROGRAMA CIENTÍFICO

Organizado por la División Agrícola y Ambiental (DiMAyA) perteneciente a la  
Asociación Argentina de Microbiología (AAM)



## **AUTORIDADES**

### **Comisión Organizadora del III CAMAyA**

**Presidente:** Olga Susana Correa

**Vicepresidente 1ro:** Cecilia Creus

**Vicepresidente 2do:** Héctor M. Álvarez

**Secretario General:** Diego Sauka

**Secretario de Actas:** Federico Vita

**Secretaria Técnica:** Rosana Massa

**Secretario Científico:** Diego Libkind

**Secretaria de Finanzas:** Viviana Chiocchio

### **Vocales**

Susana Vázquez

Bibiana Coppotelli

Martín Moliné

Natalia Fernández

Cecilia Mestre

### **Comité Técnico**

Claudio Penna

Carolina Espeche

Luciana Di Salvo

Marcelo Berretta

Debora Radovancich

### **Comité Científico**

Fabricio Cassán

Cecilia Quiroga

Ana Romero

Noella Gardella

Josefina Amigo

Virginia de García

## **COMISIÓN DIRECTIVA AAM**

<b>Presidente</b>	Gustavo Giusiano
<b>Vicepresidente</b>	Adriana Sucari
<b>Secretaria</b>	María Cecilia Freire
<b>Secretaria de actas</b>	Sandra Pampuro
<b>Prosecretario</b>	Juan Stupka
<b>Tesorera</b>	Paula Gagetti
<b>Protesorero</b>	María I. G. Fernández
<b>Vocal Titular 1º</b>	Manuel Gómez Carrillo
<b>Vocal Titular 2º</b>	María Soledad Ramírez
<b>Vocal Titular 3º</b>	Angel Cataldi
<b>Vocal Titular 4º</b>	Lucía Cavallaro
<b>Vocal Suplente 1º</b>	Sergio Epsztein
<b>Vocal Suplente 2º</b>	Susana Vázquez
<b>Vocal Suplente 3º</b>	Marina Bottiglieri
<b>Vocal Suplente 4º</b>	Emilce Méndez

## **COMISIÓN DIRECTIVA DIMAYA**

<b>Presidente</b>	Olga Correa
<b>Vicepresidente</b>	Claudio Penna
<b>Secretario</b>	Susana Vázquez
<b>Tesorero</b>	Diego Sauka
<b>Secretaria de actas</b>	Rosana Massa
<b>Vocal Titular 1º</b>	Fabrizio Cassán
<b>Vocal Titular 2º</b>	Noella Gardella
<b>Vocal Suplente 1º</b>	Cecilia Mestre
<b>Vocal Suplente 2º</b>	Cecilia Quiroga

## AUSPICIANTES

ASM - American Society for Microbiology

ABA - Asociación Bioquímica Argentina

SAMIGE - Sociedad Argentina de Microbiología General

SOMEVE - Sociedad Argentina de Medicina Veterinaria

IPNI - International Plant Nutrition Institute

FCA-UNL- Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Litoral

FCA-UNICEN - Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad del Centro de la Provincia  
de Buenos Aires

AAPRESID - Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa

AACS - Asociación Argentina de Ciencias del Suelo

SENASA - Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria

CONICET - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

INTA - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

ANAV - Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria

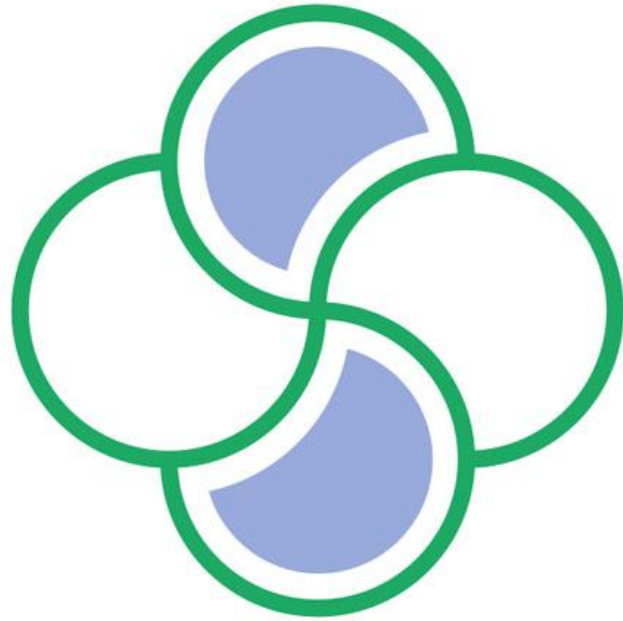
Adhesión de Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA

Apoyo y Beneplácito de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA

Declarado de interés institucional por la Facultad de Agronomía de la UBA



SPONSORS



**Stoller**<sup>®</sup>  
*Biociencias*

novozymes®



Rethink Tomorrow

Y-TEC

YPF TECNOLOGÍA



# CKC®

UNICOS  
CON  
CONTROL  
OFICIAL



## BIOFERTILIZANTES Y PROMOTORES DE CRECIMIENTO

[www.ckc.com.ar](http://www.ckc.com.ar)

**CKC®**  
LA MARCA LIDER  
EN INOCULANTES

**Laboratorios CKC Argentina S.A.**

Administración y Ventas: Montesquieu 520 (C1437FCF) C.A.B.A.  
Tel/Fax.: (011) 4941-5777 (Líneas Rotativas) / e-mail: [ckc@ckc.com.ar](mailto:ckc@ckc.com.ar)  
Depósito Central: Av. Amancio Alcorta 2655 (C1437HTB) C.A.B.A.  
Planta Industrial: Parque de Innovación Tecnológica INTA Castelar





# PROGRAMA CIENTÍFICO





### DIAGRAMA DE ACTIVIDADES

Hora	Miércoles 25/11/2015			Jueves 26/11/2015			Viernes 27/11/2015		
7:00-8:00 hs	Acreditación								
8:00-8:30 hs	<b>Apertura</b>								
8:30-9:30 hs	<i>Auditorio</i>			<i>Auditorio</i>			<i>Auditorio</i>		
	<b>Conferencia 1</b>			<b>Conferencia 3</b>			<b>Conferencia 5</b>		
9:30-10:00 hs	<i>Pausa + café</i>								
10:00-12:00 hs	<i>Auditorio</i>	<i>Sala A</i>	<i>Sala B</i>	<i>Auditorio</i>	<i>Sala A</i>	<i>Sala B</i>	<i>Auditorio</i>	<i>Sala A</i>	<i>Sala B</i>
	<b>MR 1</b>	<b>SO 1</b>	<b>MR 2</b>	<b>MR 5</b>	<b>SO 3</b>	<b>MR 6</b>	<b>MR 9</b>	-	-
12:00-14:00 hs	<i>Almuerzo</i>								
14:00-15:00 hs	<b>Conferencia 2</b>			<b>Conferencias 4</b>			<b>Conferencia 6</b>		
15:00-17:00 hs	<i>Auditorio</i>	<i>Sala A</i>	<i>Sala B</i>	<i>Auditorio</i>	<i>Sala A</i>	<i>Sala B</i>	<i>Auditorio</i>	<i>Sala A</i>	<i>Sala B</i>
	<b>MR 3</b>	<b>SO 2</b>	<b>MR 4</b>	<b>MR 7</b>	<b>SO 4</b>	<b>MR 8</b>	<b>MR 10</b>	<b>MR 11</b>	-
17:00-19:00 hs	Sesión de Posters + café			Sesión de Posters + café			Café + Cierre Congreso		
	Brindis de Bienvenida								

#### Actividades adicionales desarrolladas en el marco del congreso

1-Taller precongreso

**“Análisis de datos en ecología microbiana”**

Fecha: 24 de noviembre

Duración: 5hs

2-Taller precongreso

**“Colecciones de cultivos microbianos”**

Fecha: 24 de noviembre

Duración: 5hs

3-Taller poscongreso

**“Estrategias ómicas y su aplicación a la microbiología”**

Fecha: 28 de noviembre

Duración: 10hs

### III CAMAYA 2015

#### Disertantes Invitados

Agustín Grimoldi	IFEVA, FAUBA-CONICET
Alejandra Pereyra	FCA-UNMP
Ariel Amadio	INTA-EEA Rafaela
Betina Agarás	UNQ
Bjorn Welin	Q-ARAX
Carla Louge	DNAPVyA –SENASA
Carlos Vay	Hospital de Clínicas, UBA
Carolina Pérez Brandán	INTA-EEA Salta
Claire Prigent-Combaret	CNRS-Université de Lyon, Francia
Daniela Conte Gran	CICVyA-INTA
Diana Vullo	UNGS
Diego Libkind	INIBIOMA, UNComahueCONICET
Diego Mauricio Rivera Botia	UNRC
Edgardo Donati	CINDEFI-CONICET, UNLP
Elsa Meinardi	CEFIEC-FCEyN, UBA
Hebe Dionisi	CENPAT-CONICET
Héctor Alvarez	CRIDECIT, CIT-CHUBUT, UNPSJB-CONICET
Hugo Gramajo	IBR, UNR-CONICET
Irma Morelli	CINDEFI-UNLP-CCT La Plata-CONICET, CIC-PBA
James Shapiro	University of Chicago, USA
Laura Navas	IMYZA-INTA, Castelar
Leonardo Erijman	INGEBI-CONICET
Leopoldo Palma Dóvis	UNL
Leticia Ferrelli	IBBM, UNLP-CONICET
Marcelo Soria	INBA, FAUBA-CONICET
María Celina Zabaloy	CERZOS-CONICET, UNS
María Julia Pettinari	FCEN-UBA
María Semmartín	IFEVA, FAUBA-CONICET
María Victoria Novas	PROPLAME-PRHIDEB, UBA-CONICET
Mariana Lanfranconi	CRIDECIT, CIT-CHUBUT, UNPSJB-CONICET
Mariana Mazza	Dep. Micología, INEI-ANLIS Dr. C.G. Malbrán
Marina Nievas El Makte	CENPAT-CONICET
Marina Omacini	IFEVA, FAUBA-CONICET
Martín Moliné	INIBIOMA, UNComahue-CONICET
Martín Vázquez	INDEAR
Micaela Tosi	INBA, FAUBA-CONICET
Natalia Fernandez	INIBIOMA, UNComahue-CONICET
Nelda Olivera	CENPAT-CONICET
Noella Gardella	Novozymes BioAg SA
Oksana Sydorenko	INBA, FAUBA-CONICET
Patricia Gadaleta	CABUA-MAGyP
Paula Tribelli	FCEN-UBA
Ruben Abrantes	Dep. Micología, INEI-ANLIS Dr. C.G. Malbrán
Silvia Lede	Q-ARAX
Virginia Albarracín	PROIMI-CONICET

# PROGRAMA CIENTÍFICO

## Miércoles 25 de Noviembre

7:00 - 8:00 **Acreditación**

8:00 - 8:30 **Apertura del III Congreso de Microbiología Agrícola y Ambiental**  
Olga S. Correa-Presidente de III CAMAYA

### Auditorio: Apertura-Conferencia 1

8:30 - 9:30 Towards a new understanding of the interactome between crops and Plant Growth Promoting Rhizobacteria.  
Claire Prigent-Combaret. CNRS-Université de Lyon, Francia

9:30 - 10:00 **Pausa + café**

### Auditorio: MR1-Impacto de la agricultura sobre las comunidades microbianas del suelo

Coordinador:

Ana M. Romero FAUBA

10:00 - 10:30	Carolina Pérez Brandán (INTA-EEA Salta)	Impacto de diferentes prácticas agrícolas sobre la diversidad microbiana del suelo y la sustentabilidad de un agroecosistema sojero del norte argentino.
10:30 - 11:00	Micaela Tosi (INBA, FAUBA-CONICET)	Comunidades microbianas del suelo en una cronosecuencia de uso agrícola: respuesta al desmonte y el tiempo bajo cultivo.
11:00 - 11:30	Oksana Sydorenko (INBA, FAUBA-CONICET)	Efecto de labranza y fertilización fosforada sobre la estructura y función de las comunidades microbianas de suelos del oeste de la provincia de Buenos Aires.
11:30 - 12:00	Betina Agaras (UNQ)	Efecto de las prácticas agrícolas sobre la comunidad de <i>Pseudomonas</i> .

### Sala A: Sesión Oral 1

Moderadores: Julián Dib y Bibiana Coppotelli

10:00 - 10:20	Microbiología en ambientes antropizados	Estudio de cepas autóctonas de áreas crónicamente contaminadas con hidrocarburos para su aplicación en biorremediación. <u>Conde Molina D</u> , Liporace F, Vázquez S, Quevedo C.
10:20 - 10:40	Microbiología en ambientes antropizados	Estudio microbiológico y molecular de costras biológicas presentes en suelos del norte de Chile. <u>Muñoz A</u> , Ortiz C, Wilkens M, Muñoz F, Fernández D.
10:40 - 11:00	Microbiología en	Degradación de atrazina por el aislamiento nativo

	ambientes antropizados	<i>Arthrobacter</i> sp. AAC22 y su uso potencial para biorremediación de ambientes acuáticos contaminados. <u>Bachetti R</u> , Caporalini F, Planes E, Porporatto C, Agostini E, Morgante C.
11:00 - 11:20	Microbiología en ambientes antropizados	Estudio microbiológico y molecular de la comunidad bacteriana de sedimentos de cursos de agua dulce afectados por la actividad humana. <u>Madueño L</u> , Coppotelli BM, Terada C, Vidal NC, Oneto ME, Del Panno MT, Morelli IS
11:20 - 11:40	Microbiología en ambientes antropizados	Influencia de la técnica de extracción de ADN en el análisis de poblaciones bacterianas en plantas de almacenamiento de petróleo. <u>Dominici LE</u> , Viera MR, Del Panno MT
11:40 - 12:00	Ecología microbiana y microbiología funcional	<i>Saccharomyces eubayanus</i> : estudios genéticos y biogeográficos del ancestro de la levadura Lager en Patagonia. <u>Eizaguirre JJ</u> , Peris D, De los Ríos P, Lopes C, Rodriguez ME, Hittinger C, Libkind D.

**Sala B: MR2-Efectos de impactos antrópicos y naturales en las comunidades microbianas del suelo y sedimentos costeros Patagónicos**

Coordinadores:

Nelda Olivera CENPAT-CONICET

Marina Nievas El Makte CENPAT-CONICET

10:00 - 10:30	Nelda Olivera (CENPAT-CONICET)	El Monte Patagónico: efecto del pastoreo ovino sobre las enzimas y microorganismos del suelo.
10:30 - 11:00	Marina Nievas El Makte (CENPAT-CONICET)	Microorganismos de ambientes marino-costeros: reservorios de capacidades metabólicas en residuos de hidrocarburos.
11:00 - 11:30	Natalia Fernández (INIBIOMA, UNComahue-CONICET)	¿Cómo influyen distintos disturbios a las comunidades fúngicas asociadas al suelo y las plantas de bosques nativos? Dos casos de estudio en Patagonia.
11:30 - 12:00	Mariana Lanfranconi. (CRIDECIT, CIT-CHUBUT, UNPSJB-CONICET)	Distribución diferencial de bacterias acumuladoras de lípidos neutros en suelo y sedimentos marinos de la Patagonia, sometidos a distintos niveles de contaminación por hidrocarburos.

12:00 - 14:00 **Almuerzo**

**Auditorio: Conferencia 2**

14:00 - 15:00 Residuos en la MIRA: un problema complejo del ambiente urbano.  
María Semmartín. IFEVA, FAUBA-CONICET

## Auditorio: MR3-Microorganismos de ambientes extremos

Coordinadores:

Susana Vázquez NANOBIOTEC, UBA-CONICET

Julián Dib PROIMI-CONICET

15:00 - 15:40	Edgardo Donati (CINDEFI-UNLP)	Procariotas extremófilos en la biominería.
15:40 - 16:20	Martín Moliné (INIBIOMA- UNComahue-CONICET)	Levaduras extremófilas y poliextremófilas argentinas: diversidad, ecología y biotecnología.
16:20 - 17:00	Virginia Albarracín (PROIMI-CONICET)	Genómica funcional para el estudio de mecanismos moleculares de resistencia a UV en extremófilos.

## Sala A: Sesión Oral 2

Moderadores: María Cecilia Mestre y Natalia Fernández

15:00 - 15:20	Microbiología agrícola	Las comunidades diazótroficas presentes en diferentes suelos ¿determinan las comunidades establecidas como endófitas de raíces de arroz? <u>Martínez A</u> , Fernández A, Ferrando L.
15:20 - 15:40	Microbiología agrícola	Interacciones celulares mediadas por moléculas <i>quorum</i> como herramienta biotecnológica para el desarrollo de consorcios bacterianos PGPRs. <u>Castaño C</u> , García Arhex P, Pagliero F, Lorda G.
15:40 - 16:00	Relación planta-microorganismos	Bacterias promotoras del crecimiento reducen los efectos negativos de As sobre plantas de vid. <u>Funes Pinter I</u> , Salomon MV, Berli F, Bottini R, Piccoli P.
16:00 - 16:20	Relación planta-microorganismos	El déficit hídrico afecta los eventos tempranos y tardíos de la interacción <i>Arachis hyogaea-Bradyrhizobium</i> . Cesari AB, Paulucci NS, Dardanelli MS
16:20 - 16:40	Microbiología de suelos agrícolas y forestales	Cambio de la diversidad funcional y uso de sustrato en la comunidad microbiana de suelos expuestos a glifosato. <u>Romano-Armada N</u> , Amoroso MJ, Rajal VB.
16:40 - 17:00	Microbiología de suelos agrícolas y forestales	Influencia del uso de la tierra sobre la diversidad de <i>Trichoderma</i> en suelos del NOA. <u>Vogrig JA</u> , Montecchia MS, Tosi M, Chiocchio VM, Correa OS.

## Sala B: MR4-Avances en el estudio de microorganismos destinados al control microbiano de insectos

Coordinadores:

Marcelo Berretta IMYZA-INTA Castelar

Diego Sauka IMYZA-INTA Castelar

15:00 - 15:40	Laura Navas (IMYZA-INTA, Castelar)	Análisis del genoma de una cepa argentina de <i>Bacillus thuringiensis</i> y caracterización funcional de factores de virulencia.
15:40 - 16:20	Leticia Ferrelli (IBBM, UNLP-CONICET)	Estudio de baculovirus nativos con potencial para el control de insectos plaga.
16:20 - 17:00	Leopoldo Palma Dovis (UNL)	Búsqueda y caracterización de nuevas toxinas Bt para preservar la eficacia de <i>Bacillus thuringiensis</i> en el control de plagas agrícolas.

17:00 - 19:00 **Sesión de Posters A + café**

## Jueves 26 de Noviembre

### Auditorio: Conferencia 3

8:30 - 9:30 Indicadores microbianos: enfoques y herramientas para la evaluación del impacto de agroquímicos sobre los suelos.  
María Celina Zabaloy. CERZOS-CONICET, UNS

9:30 - 10:00 **Pausa + café**

### Auditorio: MR5- Espacio REDCAI

Coordinador:

Fabrizio Cassán UNRC-Córdoba

10:00 - 10:15	Carla Louge (DNAPVyA –SENASA)	Registro de Fertilizantes Biológicos en Argentina.
10:15 - 10:30	Silvia Lede Bjorn Welin (Q-ARAX)	Q-ARAX. Empresa Nacional de Base Tecnológica.
10:30 - 10:45	Daniela Conte Grand (MAGyP)	Programa de Fomento del Uso de Bioinsumos Agropecuarios. PROFOBIO
10:45 - 11:00	Patricia Gadaleta (CABUA-MAGyP)	Comité Asesor sobre Bioinsumos de Uso Agropecuario (CABUA).
11:00 - 12:00	Informes de los grupos de trabajo de REDCAI y discusión de datos.	



### Sala A: Sesión Oral 3

Moderadores: Susana Vázquez y Edgardo Hernández

10:00 - 10:20	Genómica, Transcriptómica, Metagenómica	Ocurrencia de intrones del grupo II en metagenomas de sedimentos submareales de distinta procedencia. Napolitano N, Vázquez S, Sjöling S, Lundgren L, Dionisi HB, Lozada M, Jansson J, Mac Cormack WP, <u>Quiroga C.</u>
10:20 - 10:40	Genómica, Transcriptómica, Metagenómica	Genómica comparativa de <i>Azospirillum</i> como herramienta para identificar genes candidatos para MLSA. <u>Maroniche GA</u> , García JE, Creus CM.
10:40 - 11:00	Genómica, Transcriptómica, Metagenómica	Metagenómica funcional de un consorcio bacteriano degradador de hidrocarburos policíclicos aromáticos. <u>Festa S</u> , Madueño L, Loviso CL, Coppotelli BM, Morelli IS.
11:00 - 11:20	Microbiología general e industrial	Preparación de macroesferas de quitosano y almidón como innovación para la bioencapsulación de <i>A. brasilense</i> AZ39 y <i>P. fluorescens</i> ZME4. <u>Pérez JJ</u> , Maroniche GA, Pereyra MA, François NJ, Creus CM.
11:20 - 11:40	Microbiología general e industrial	Endófitos de <i>Raphanus sativus</i> : una herramienta biotecnológica para la síntesis de precursores sintéticos enantiopuros. <u>Magallanes-Noguera C</u> , Rodríguez Bonnacarrere P, Menendez P, Gonzalez D, Rodríguez Giordano S, Orden A, Kurina-Sanz M.
11:40 - 12:00	Microbiología general e industrial	Bacterias patagónicas para el tratamiento antiencogimiento de lana Merino y el reemplazo de un proceso industrial contaminante. Iglesias M, Sequeiros C, García S, <u>Olivera N.</u>

### Sala B: MR6-Enseñanza de la microbiología

Coordinador:

Olga Correa INBA, FAUBA-CONICET

10:00 - 10:40	Diana Vullo (UNGS-CONICET)	Estrategias de enseñanza: ¿Qué es el diseño inverso (backward design) y como se aplica?.
10:40 - 11:20	Alejandra Pereyra (FCA-UNMP)	La enseñanza universitaria en la era de las TICs.
11:20 - 12:00	Elsa Meinardi (CEFIEC-FCEyN, UBA)	¿Para qué me sirve la didáctica en la universidad?

12:00 - 14:00 **Almuerzo**

#### Auditorio: Conferencia 4

14:00 - 15:00 Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos: una visión molecular.

Irma Morelli. CINDEFI-UNLP-CCT La Plata-CONICET, CIC-PBA

#### Auditorio: MR7- Nuevas herramientas para el estudio de microbiota del suelo y rizosfera

Coordinador:

Fabrizio Cassán UNRC-Córdoba

15:00 - 15:40	Diego Mauricio Rivera Botia (UNRC-CONICET)	Uso de la genómica y transcriptómica para el estudio de rizobacterias promotoras del crecimiento de interés agrícola.
15:40 - 16:20	Marcelo Soria (INBA, FAUBA-CONICET)	Cambios en el microbioma del suelo asociados a transformaciones en el uso de la tierra. Un estudio con técnicas de secuenciación de última generación.
16:20 - 17:00	Martín Vázquez (INDEAR)	Análisis integrado de microbiomas de raíz de soja y trigo en condiciones de producción a campo.

#### Sala A: Sesión Oral 4

Moderadores: Diego Libkind y Martín Moliné

15:00 - 15:20	Control microbiano de insectos	Susceptibilidad de distintas especies de insectos plaga a la proteína CRY1IA de <i>Bacillus thuringiensis</i> INTA H4-3. <u>Pedarros A</u> , Berretta M, Onco M, Pérez M, Sauka D, Benintende G.
15:20 - 15:40	Control biológico de enfermedades	Bacteriófagos como bactericida natural. Ortiz X, Prosdócimo F, Ojeda P, De Franceschi M, <u>Barrios H</u> .
15:40 - 16:00	Control biológico de enfermedades	Levaduras nativas <i>killer</i> ; una bio-alternativa eficaz para el control de infecciones postcosecha de limones. Perez MF, Contreras L, <u>Dib JR</u> .
16:00 - 16:20	Control biológico de enfermedades	Efecto de la interacción de <i>B. amyloliquefaciens</i> PGPBACCA1 con <i>Fusarium solani</i> y <i>Sclerotinia Sclerotiorum</i> sobre la síntesis de lipopéptidos: análisis por UV MALDI-TOF. Torres MJ, Petroselli G, <u>Pérez-Brandan C</u> , Erra-Basells R, Audisio MC.
16:20 - 16:40	Microbiología agrícola	Ecología de endófitos de semilla y potencial como agentes de biocontrol de <i>Fusarium graminearum</i> . Díaz Herrera SM, Grossi CEM, Groppa MD, <u>Zawoznik MS</u> .

16:40 - 17:00 Microbiología agrícola Evaluación del rol del sistema de secreción de tipo VI en los procesos de movilidad y formación de biopelículas de *Azospirillum brasilense* Az39. Coniglio A, Rivera D, Molina R, Cassán F.

### Sala B: MR8- Biotecnología Microbiana

Coordinador:

Ana Arabolaza IBR-UNR-CONICET

15:00 - 15:40 María Julia Pettinari (FCEN-UBA) Un enfoque holístico en ingeniería metabólica: manipulación de reguladores globales para optimizar la obtención de bioproductos.

15:40 - 16:20 Hugo Gramajo (IBR, UNR-CONICET) Biosíntesis ortogonal de lípidos en *Escherichia coli*: Producción de nuevos compuestos de interés biotecnológico.

16:20 - 17:00 Héctor M. Alvarez (CRIDECIT, CIT-CHUBUT, UNPSJB-CONICET) Descifrando las bases moleculares de la acumulación de triacilglicéridos en bacterias *Rhodococcus*, una plataforma para ingeniería genética.

17:00 - 19:00 **Sesión de Posters B + café**

## Viernes 27 de Noviembre

### Auditorio: Conferencia 5

8:30 - 9:30 Potencial metabólico y biotecnológico de las comunidades microbianas de ambientes marinos extremos: la degradación de polisacáridos de algas pardas como caso de estudio.  
Hebe Dionisi. CENPAT-CONICET

9:30 - 10:00 **Pausa + café**

### Auditorio: MR9-Aplicaciones de "ómicas" al estudio de bacterias y comunidades

Coordinadores:

Bibiana Coppotelli CINDEFI-UNLP-CCT La Plata-CONICET

Cecilia Quiroga IMPaM (UBA-CONICET)- FMed-UBA

10:00 - 10:40 Ariel Amadio (INTA-Rafaela) Secuenciación de genomas de interés agropecuario y agroindustrial.

10:40 - 11:20 Paula Tribelli (FCEN-UBA) Estrategias fisiológicas involucradas en la adaptabilidad al ambiente reveladas por RNA-seq en

11:20 - 12:00 Leonardo Erijman  
(INGEBI-CONICET)

*Pseudomonas extremaustralis*, una bacteria aislada del continente Antártico.

Metagenómica de plantas de tratamiento de efluentes: diversidad funcional y reglas de ensamblado de las comunidades microbianas.

12:00 - 14:00 **Almuerzo**

**Auditorio: Conferencia 6 (auspiciado por American Society for Microbiology)**

14:00 - 15:00 How life changes itself: the read-write genome.  
James Shapiro. University of Chicago, USA  
(conferencia virtual con preguntas y respuestas en tiempo real)

**Auditorio: MR10-Hongos Promotores del crecimiento**

Coordinadores:

Noella Gardella Novozymes BioAg SA

Viviana Chiocchio INBA FAUBA -CONICET

15:00 - 15:30 Noella Gardella  
(Novozymes BioAg SA)

Actividad PGPR de *Penicillium bilaiae* sobre semillas. Propuestas de nuevos métodos de control.

15:30 - 16:00 Marina Omacini  
(IFEVA, FAUBA-CONICET)

Hongos endófitos de pastos en agroecosistemas: simbiontes asexuales con múltiples efectos en el vecindario del hospedante.

16:00 - 16:30 María Victoria Novas  
(PROPLAME-PRHIDEB,  
UBA-CONICET)

Efecto de los endofitos foliares sobre micorrizas arbusculares y otros hongos del suelo.

16:30 - 17:00 Agustín Grimoldi  
(IFEVA, FAUBA-CONICET)

Efecto de las micorrizas arbusculares en la recuperación post-defoliación de gramíneas forrajeras.

**Sala A: MR11-Identificación molecular de microorganismos**

Coordinadores:

Graciela Davel DMic-INEI-, ANLIS Dr. C. G. Malbrán

Silvia Coria Dept. Microbiología Ambiental-IAA/DNA

15:00 - 15:30 Diego Libkind  
(INIBIOMA-CONICET)

Técnicas moleculares y genómicas para la identificación de hongos y bacterias.

15:30 - 16:00 Ruben Abrantes  
(Dmic, Dep. Micología,  
INEI-ANLIS Dr. Malbrán)

Identificación molecular de hongos.

16:00 - 16:30	Mariana Mazza (Dmic, Dep. Micología, INEI-ANLIS Dr. Malbrán)	Identificación de microorganismos por MALDI-TOF.
16:30 - 17:00	Carlos Vay (Hosp. de Clínicas-UBA)	Identificación molecular de bacterias

17:00 - 17:30 ***Pausa + café***

17:30 - 18:00 ***Acto de cierre del Congreso y entrega de premios a los mejores trabajos presentados por estudiantes***

### **Actividades adicionales desarrolladas en el marco del congreso**

1-Taller precongreso

***“Análisis de datos en estudios de ecología microbiana”***

Fecha: 24 de noviembre

Duración: 5 hs

2-Taller precongreso

***“Organización y gestión de Colecciones de Cultivos Microbianos y preservación de microorganismos”***

Fecha: 24 de noviembre

Duración: 5 hs

3-Taller poscongreso

***“Estrategias ómicas y su aplicación a la microbiología”***

Fecha: 28 de noviembre

Duración: 10 hs

## Miércoles 25 de Noviembre: Sesión de Posters A

### Área Temática: Microbiología Agrícola-Control biológico de enfermedades

Código	Autor presentador	Título
A-1	Albo, Graciela Noemí	INHIBICIÓN <i>IN VITRO</i> DE <i>Ascosphaera apis</i> CON ACEITES ESENCIALES DE GRAMÍNEAS NATIVAS E INTRODUCIDAS.
A-2	Albo, Graciela Noemí	POTENCIALES EFECTOS TÓXICOS DE ACEITES ESENCIALES DE GRAMINEAS Y DILUYENTES, EFECTIVOS <i>IN VITRO</i> EN <i>Ascosphaera apis</i> , SOBRE ADULTOS Y LARVAS DE ABEJA MELIFERA ( <i>Apis mellifera</i> , L.).
A-3	Carezzano, María Evangelina	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PRODUCTOS NATURALES OBTENIDOS DE <i>Thymus vulgaris</i> Y <i>Origanum vulgare</i> SOBRE <i>Pseudomonas syringae</i> AISLADAS DE TRIGO.
A-4	Carezzano, María Evangelina	CARACTERIZACIÓN DE FITOTOXINAS PRODUCIDAS POR CEPAS DE <i>Pseudomonas syringae</i> AISLADAS DE SOJA.
A-5	Carrasco, Franca	<i>Trichoderma</i> : BANCO DE GERMOPLASMA DEL NOA, PRODUCCIÓN DE BIOMASA A BAJO COSTO Y APLICACIÓN EN CULTIVOS DE OLIVO CON VERTICILOSIS.
A-6	Cabrales Campo, Ivette Marcela	EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL EFECTO BIOCIDA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE HONGOS FITOPATÓGENOS AISLADOS Y CARACTERIZADOS DEL OITÍ ( <i>Licania tomentosa</i> ).
A-7	Zapiola, José Matías	ANÁLISIS DE FORMULACIONES DE <i>Trichoderma harzianum</i> TH2 DURANTE UN PERÍODO DE ALMACENAMIENTO DE SEIS MESES.
A-8	Ruffinatto, Laura Andrea	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE FRACCIONES ACTIVAS DE EXTRACTOS DE <i>Minthostachys verticillata</i> (PEPERINA) FRENTE A <i>Paenibacillus larvae</i> .
A-9	Gonzalez, Magalí	EVALUACIÓN DE AGENTES BIOCOMPATIBLES EN EL CONTROL DE CRECIMIENTO <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i> DE <i>Botrytis cinerea</i> .
A-10	Oliva, María de las Mercedes	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PRODUCTOS NATURALES OBTENIDOS DE <i>Thymus vulgaris</i> Y <i>Origanum vulgare</i> SOBRE <i>Paenibacillus larvae</i> , AGENTE CAUSAL DE LOQUE AMERICANA.
A-11	Oliva, María de las Mercedes	EFECTO DE ACEITES ESENCIALES DE <i>Thymus vulgaris</i> Y <i>Origanum</i>



		<i>vulgare</i> SOBRE SEMILLAS DE <i>Glycine max.</i>
<b>A-12</b>	Sayago, Pamela	ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE RIZOBACTERIAS FRENTE A LOS HONGOS PATÓGENOS DE SUELO <i>Verticillium dahliae</i> Y <i>Fusarium</i> spp.
<b>A-13</b>	Príncipe, Analía	BIOCONTROL DE <i>Xanthomonas axonopodis pv vesicatoria</i> A TRAVÉS DE BACTERIOCINAS PRODUCIDAS POR <i>Pseudomonas</i> .
<b>A-14</b>	Vita, Federico Alberto	CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE BIOCONTROL Y DE PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR) DE CEPAS DE <i>Bacillus</i> spp. AISLADAS DE RIZOSFERA DE TOMATE CULTIVADO EN SUELOS DESINFECTADOS CON METAM SODIO Y METAM POTASIO.
<b>A-15</b>	Martín, Mara	EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL POTENCIAL ANTAGÓNICO DE AISLAMIENTOS NATIVOS DE <i>Cladorrhinum</i> FRENTE A FITOPATÓGENOS.

#### Área Temática: Microbiología Agrícola- Control microbiano de insectos

Código	Autor presentador	Título
<b>A-16</b>	Gortari, María Cecilia	ACTIVIDAD <i>IN VITRO</i> DE AISLAMIENTOS NATIVOS DE <i>Purpureocillium lilacinum</i> SOBRE HUEVOS DE <i>Nacobbus aberrans</i> .
<b>A-17</b>	Sosa, Ana Laura	AISLAMIENTO DE NEMATODOS Y HONGOS CON POTENCIAL ACTIVIDAD NEMATÓFAGA EN CULTIVOS HORTÍCOLAS DEL CINTURÓN VERDE DE LA CIUDAD DE RÍO CUARTO, CÓRDOBA, ARGENTINA.
<b>A-18</b>	Sauka, Diego	PREDICCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ZWITTERMICINA A EN <i>Bacillus thuringiensis</i> A TRAVÉS DE AMPLIFICACIÓN GÉNICA DE ZMAA Y ZMAC.
<b>A-19</b>	Palma, Leopoldo	RESISTENCIA NATURAL A LA RADIACIÓN UV DE LA CEPA ENTOMOPATÓGENA <i>Bacillus pumilus</i> 15.1.
<b>A-20</b>	Palma, Leopoldo	AISLAMIENTO DE CEPAS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> AUTÓCTONAS DE LA PROVINCIA DE SANTA FE, ARGENTINA.
<b>A-21</b>	Oncó, María Inés	EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE <i>Bacillus thuringiensis</i> PARA LARVAS DE LA POLILLA DEL MANZANO.
<b>A-22</b>	Pérez, Melisa Paula	CARACTERIZACIÓN DE <i>Bacillus thuringiensis</i> INTA MO4-4 TÓXICO PARA EL ESCARABAJO DE LA CAMA DE POLLO.
<b>A-23</b>	Pérez, Melisa Paula	ESTUDIO DE TAMIZAJE DE <i>Bacillus thuringiensis</i> TÓXICOS PARA

*Alphitobius diaperinus*.

<b>A-24</b>	Vianna, María Florencia	CONSUMO FOLIAR DE MAÍZ INOCULADO CON EL HONGO ENTOMOPATÓGENO <i>Beauveria bassiana</i> (ASCOMYCOTA: HYPOCREALES) POR <i>Spodoptera frugiperda</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).
-------------	-------------------------	---

**Área Temática: Microbiología de suelos agrícolas y forestales**

<b>Código</b>	<b>Autor presentador</b>	<b>Título</b>
<b>A-25</b>	Cossoli, Marcela Rosa	USO DE LOMBRICOMPUUESTO Y UN INOCULANTE BACTERIANO EN EL CULTIVO DE ALGODÓN. SU EFECTO EN DOS SUELOS DIFERENTES.
<b>A-26</b>	Carranza, Cecilia Soledad	MICROBIOTA CULTIVABLE DE SUELOS AGRÍCOLAS CON Y SIN EXPOSICIÓN PROLONGADA A PESTICIDAS.
<b>A-27</b>	Escobar Ortega, Jhovana Silvia	EFECTO DE LA INOCULACIÓN COMBINADA CON <i>Azospirillum brasilense</i> Y <i>Pseudomonas fluorescens</i> DE DOS CULTIVOS DE COBERTURA SECADOS CON GLIFOSATO SOBRE DOS GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS RIZOFÉRICOS.
<b>A-28</b>	Carron, Ayelen Inés	ESTUDIOS DE GRUPOS BACTERIANOS COMO INDICADORES DE CALIDAD DE SUELO EN RELACIÓN AL MANEJO FORESTAL EN UN MATORRAL ALTO NATIVO ANDINO-PATAGÓNICO.
<b>A-29</b>	Nievas, Fiorela Luján	RELEVAMIENTO DE CEPAS PRODUCTORAS DE MOLÉCULAS <i>QUORUM SENSING</i> EN LA RIZÓSFERA DE MANÍ.
<b>A-30</b>	Gaviria Giraldo, Jennifer	DETERMINACIÓN DE BACTERIAS DIAZOTRÓFICAS CON ACTIVIDAD PROMOTORA DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN <i>Daucus carota</i> L.
<b>A-31</b>	Larrandart, Agata	EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA EN ESTADIOS INICIALES DE MAÍZ DULCE INOCULADO CON <i>Azospirillum</i> ANTE EL ESTRÉS HÍDRICO.
<b>A-32</b>	Allegrini, Marco	EL ESTRÉS POR DESECACIÓN NO CONDICIONA LA TOLERANCIA DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS A GLIFOSATO.
<b>A-33</b>	Novas, María Victoria	EVALUACIÓN DE HONGOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO AISLADOS DE LA RIZÓSFERA DE LA GRAMÍNEA NATIVA <i>Bromus auleticus</i> .
<b>A-34</b>	Rojo, Rodrigo Alejandro	INTENSIFICACIÓN SUSTENTABLE DE LOS SISTEMAS AGRÍCOLAS Y COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO.

<b>A-35</b>	Yacobino, Mariano	COINOCULACIÓN EN EL CULTIVO DE SOJA, EVALUACIÓN A CAMPO DE FORMULACIONES COMERCIALES.
<b>A-36</b>	Andreoli, Yolanda Elina	COMUNIDADES MICROBIANAS: AGRICULTURA CONTINUA VERSUS PASTIZAL NATURAL EN SUELOS DEL SUDESTE BONAERENSE.
<b>A-37</b>	Rorig, Marcela	CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFORO AISLADAS DE UN SUELO DE SANTIAGO DEL ESTERO.

**Área Temática: Relación planta-microorganismos**

<b>Código</b>	<b>Autor presentador</b>	<b>Título</b>
<b>A-38</b>	Rosas, Susana	EFFECTO DE UN BIOFORMULADO MIXTO SOBRE CULTIVOS HORTÍCOLAS DE HOJAS ( <i>Beta vulgaris</i> Y <i>Lactuca sativa</i> ).
<b>A-39</b>	Rosas, Susana	APORTE DE UN BIOFORMULADO MIXTO A LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE LEGUMINOSAS.
<b>A-40</b>	Cohen, Ana	EVALUACIÓN DE LA COINOCULACIÓN CON <i>Azospirillum brasilense</i> SP 245 Y <i>Pseudomonas fluorescens</i> RT6M10 EN <i>Arabidopsis thaliana</i> CON ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO.
<b>A-41</b>	Cohen, Ana	COINOCULACIÓN CON <i>Azospirillum brasilense</i> SP 245 Y <i>Pseudomonas fluorescens</i> RT6M10 EN TOMATE (VAR. MICROTOM) PARA MITIGAR CONTAMINACIÓN AMBIENTAL Y REDUCIR GASTOS DE PRODUCCIÓN.
<b>A-42</b>	Anzuay, Soledad	EFFECTOS DE INOCULACIONES SIMPLES Y MIXTAS CON BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EN PLANTAS DE MAIZ ( <i>Zea mays</i> L.) Y SU SUPERVIVENCIA EN ENSAYOS EN MICROCOSMO.
<b>A-43</b>	Carrasco, Franca	AISLAMIENTO Y RESÍNTESIS DE ENDÓFITOS SEPTADOS OSCUROS DISPERSADOS EN HECES DE <i>Ctenomys knigthi</i> (RODENTIA).
<b>A-44</b>	Covacevich, Fernanda	INCLUSIÓN DE AVENA AL MONOCULTIVO DE SOJA.
<b>A-45</b>	Rivera, Diego	EMISIÓN DE GASES INVERNADERO EN LA INTERACCIÓN <i>Bradyrhizobium</i> -SOJA.
<b>A-46</b>	Wassermann, Eliana	CANCRO BACTERIANO DEL TOMATE: ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> .
<b>A-47</b>	Banchio, Erika	ANÁLISIS DE ACTIVIDADES PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE RIZÓSFERA DE <i>Mentha x piperita</i> L.
<b>A-48</b>	Banchio, Erika	INCREMENTO EN LA EMISIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS

		VOLÁTILES (VOCs) Y LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN <i>Mentha x piperita</i> L., COMO UNA RESPUESTA A LA INOCULACIÓN CON RIZOBACTERIAS.
<b>A-49</b>	Nievas, Fiorela Luján	ROL DE MOLÉCULAS SUPERFICIALES EN LAS INTERACCIONES CELULARES DE <i>Ensifer meliloti</i> .
<b>A-50</b>	García de Salamone, Inés Eugenia	REDUCCIÓN DEL IMPACTO NEGATIVO DE LA SEQUÍA EN PLANTAS DE MAÍZ Y LECHUGA CULTIVADAS EN INVERNÁCULO MEDIANTE COMBINACIONES DE PRODUCTOS MICROBIANOS.
<b>A-51</b>	García Parisi, Pablo Adrián	ENDÓFITOS FOLIARES, MICORRIZAS Y RIZOBIOS MEDIANDO LA RETROALIMENTACIÓN PLANTA-SUELO ENTRE PASTOS Y LEGUMINOSAS.
<b>A-52</b>	Ghezzi, Daniela Fernanda	POTENCIAL DEL SISTEMA HONGOS DSE- <i>Arabidopsis thaliana</i> : EVALUACIÓN DEL EFECTO DE <i>Microdochium bolleyi</i> EN ESTA PLANTA HOSPEDANTE.
<b>A-53</b>	Iturralde, Esteban Tomás	SELECCIÓN DE VARIANTES MÁS MÓVILES DE DOS CEPAS ALÓCTONAS CON BUENA CAPACIDAD FIJADORA DE N.
<b>A-54</b>	García, Julia	UTILIZACIÓN DE MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE PLANTINES EN YERBA MATE ( <i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil).
<b>A-55</b>	Lett, Lina A. C	AISLAMIENTO DE <i>Escherichia coli</i> NATIVAS Y CARACTERIZACIÓN DE SU CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN E INTERNALIZACIÓN EN PLANTAS DE LECHUGA ( <i>Lactuca sativa</i> ).
<b>A-56</b>	Luna, María Flavia	ESTABILIDAD DE <i>Burkholderia tropica</i> EN FORMULACIONES LÍQUIDAS Y EN SEMILLAS DE GRAMÍNEAS.
<b>A-57</b>	López Gastón, María Maura	BACTERIAS ENDOFÍTICAS AISLADAS DE HOJAS Y RAÍCES DE ÁRBOLES DE PARAÍSO ( <i>Melia azedarach</i> ) CON POTENCIAL ACTIVIDAD PROMOTORA DEL CRECIMIENTO VEGETAL.
<b>A-58</b>	Borrajo, María Paula	UTILIZACIÓN DE <i>Azospirillum brasilense</i> EN LA PRODUCCIÓN DE PLANTINES DE LECHUGA EN CONDICIONES DE SALINIDAD.
<b>A-59</b>	Nieva, Amira Susana del Valle	COMPORTAMIENTO DIFERENCIAL ESPECIE-ESPECÍFICO DE UN ENDOFITO FÚNGICO DEL GÉNERO <i>Lotus</i> .
<b>A-60</b>	Piccinetti, Carlos Fabián	SELECCIÓN DE RIZOBIOS EFICIENTES PARA VARIEDADES COMERCIALES DE ARVEJA.

<b>A-61</b>	Cavagnaro, Romina Andrea	DIFERENCIAS ESPECÍFICAS ENTRE GRAMÍNEAS C3 Y C4 EN LA UTILIZACIÓN DEL FÓSFORO APORTADO POR MICORRIZAS Y/O FERTILIZACIÓN.
<b>A-62</b>	Taurian, Tania	ROL DEL COFACTOR PQQ DE LA BACTERIA <i>Serratia</i> sp. S119 EN LA RESPUESTA ANTIOXIDANTE Y EN LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA DE DEFENSA DE LA PLANTA DE MANÍ.
<b>A-63</b>	Theumer, Martín Gustavo	INDUCCIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO COMO MECANISMO DE FITOPATOGENICIDAD DE FUMONISINA B1 EN MAÍZ.
<b>A-64</b>	Vianna, María Florencia	DIVERSIDAD DE HONGOS ENDOFITOS EN PLANTAS DE TABACO ( <i>Nicotiana tabacum</i> L.) DE LA PROVINCIA DE JUJUY.
<b>A-65</b>	Yarte, Mauro Enrique	<i>Azospirillum brasilense</i> INDUCE MODIFICACIONES ANATÓMICAS E INCREMENTA LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO DURANTE EL ENRAIZAMIENTO <i>IN VITRO</i> DE JOJOBA.
<b>A-67</b>	Lami, María Jesús	SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL PARA CULTIVOS DE SOJA Y MAIZ.

#### Área Temática: Microbiología agrícola - REDCAI

Código	Autor presentador	Título
<b>A-68</b>	Barlocco, Claudia	SISTEMA URUGUAYO DE FISCALIZACIÓN DE INOCULANTES Y PUESTA EN VALOR DE LA COLECCIÓN NACIONAL DE CEPAS DE RIZOBIOS.
<b>A-69</b>	Vogrig, Jimena Andrea	EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE BIOINOCULANTES FÚNGICOS: UNA APROXIMACIÓN A LA ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO ESTANDARIZADO.

#### Área Temática: Microbiología agrícola - Otros

Código	Autor presentador	Título
<b>A-70</b>	Cassán, Fabricio Darío	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO SOBRE LA TOLERANCIA A LA LUZ DE <i>Azospirillum brasilense</i> Az39.
<b>A-71</b>	Cassán, Fabricio Darío	OBTENCIÓN DE UNA MUTANTE DE <i>B. japonicum</i> E109 DEFICIENTE EN ACTIVIDAD PEROXIDASA Y EVALUACIÓN DEL CATABOLISMO DEL ACIDO INDOL-3-ACETICO.

## Otras áreas temáticas - Enseñanza de la Microbiología

Código	Autor presentador	Título
A-72	Dediol, Cora	PROPUESTA PEDAGÓGICA PARA LA ENSEÑANZA DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL.

## Jueves 26 de Noviembre: Sesión de Posters B

### Área Temática: Microbiología agrícola

Código	Autor presentador	Título
B-1	Curá, José Alfredo	EFFECTOS DE LA INOCULACION CON <i>Serratia</i> sp. SOBRE MAÍZ TARDÍO BAJO DIFERENTES NIVELES DE FERTILIZACIÓN A CAMPO.
B-2	Escobar Ortega, Jhovana Silvia	CANTIDAD DE MICROORGANISMOS CELULOLÍTICOS Y NITRIFICADORES DE LA RIZÓSFERA DE CULTIVOS DE COBERTURA MANEJADOS CON GLIFOSATO.
B-3	Farrando, Silvina	EVALUACIÓN DE POTENCIAL ADITIVO DE ORIGEN NATURAL: EFECTO INHIBIDOR SOBRE BACTERIAS ALTERANTES Y PATÓGENAS.
B-4	García, Julia Elena	IDENTIFICACIÓN GENOTÍPICA DE AISLAMIENTOS DE <i>Azospirillum</i> A TRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS.
B-5	García, María Cecilia	AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE <i>Lactobacillus</i> DE POLLOS CON POTENCIAL PROBIÓTICO.
B-6	Vullo, Diana Lía	AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL EN SUELOS HORTÍCOLAS.
B-7	Maroniche, Guillermo Andrés	<i>Pseudomonas</i> RECOMBINANTES SOBREPDUCTORAS DE AUXINAS Y SU EFECTO EN RAÍCES DE TRIGO.
B-8	Lucentini, Gustavo C.	SUPERVIVENCIA Y TOLERANCIA A AGROQUÍMICOS, COMO ELEMENTOS DE SELECCIÓN DE RIZOBIOS SIMBIONTES DE SOJA, PARA LA FORMULACIÓN DE INOCULANTES.
B-9	Ibarra, José Gervasio	ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD SOLUBILIZADORA DE FÓSFORO A BAJAS TEMPERATURAS DE <i>Pseudomonas extremaustralis</i> , UNA BACTERIA ANTÁRTICA.



<b>B-10</b>	Amigo, Josefina Alejandra	SOLUBILIZACIÓN DE DISTINTAS FUENTES FOSFATADAS POR <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAL5 Y SUS MUTANTES DEFICIENTES EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS.
<b>B-11</b>	Silva Rodrigues Cabral, Juliana	INOCULACIÓN <i>EX VITRO</i> DE MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN PLANTAS MICROPROPAGADAS DE <i>Hancornia speciosa</i> Gomes.
<b>B-12</b>	Hernández Guijarro, Keren	CAMBIOS EN LAS COMUNIDADES FÚNGICAS DEL SUELO RELACIONADOS CON DIFERENTES HISTORIALES DE APLICACIÓN DEL GLIFOSATO Y SU DEGRADACIÓN.
<b>B-13</b>	Rodrigues Costa, Lucas Natanael	EFICIENCIA SIMBIÓTICA DE LA INOCULACIÓN CON <i>Glomus etunicatum</i> EN ESPECIES FRUTALES DEL CERRADO.
<b>B-14</b>	Solans, Mariana	ACTINOBACTERIAS COMO POTENCIALES AGENTES DE BIOCONTROL Y PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL.
<b>B-15</b>	Statello, Marina	ESTABLECIMIENTO DE LA ASOCIACIÓN MICORRÍCICA ARBUSCULAR EN PLANTAS DE MAÍZ GENÉTICAMENTE MODIFICADAS.
<b>B-16</b>	Bonacci, Martín	IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS NATURALES DE <i>Conyza bonariensis</i> (RAMA NEGRA) POTENCIALES AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO.
<b>B-17</b>	Salcedo, María Florencia	INTERACCIÓN ENTRE AIA Y NO DURANTE LA FORMACIÓN DE BIOFILM EN <i>Azospirillum brasilense</i> .
<b>B-18</b>	Stenglein, Sebastián	INTERACCIÓN DE <i>Fusarium graminearum</i> Y <i>F. poae</i> CON TRIGO Y CEBADA.
<b>B-19</b>	Toffoli, Lucía Mercedes	CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL ASOCIADAS A CULTIVOS ORNAMENTALES.
<b>B-20</b>	Tortora, María Laura	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DEL RESIDUO DE COSECHA DE LA CAÑA DE AZÚCAR SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CULTIVO Y EL DESARROLLO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS.
<b>B-21</b>	Tortora, María Laura	RESPUESTA AL ESTRÉS SALINO DE SORGO AZUCARADO INOCULADO CON <i>Azospirillum brasilense</i> .
<b>B-22</b>	Villar Ramírez, Natalia Elizabeth del Valle	VERMICOMPUESTO Y MICROORGANISMOS PGPRS: USO EN EL CULTIVO DE TOMATE Y DE ZAPALLO.

<b>B-23</b>	Marques, Vinicius de Oliveira	SOLUBILIZACIÓN <i>IN VITRO</i> DE FOSFATOS INORGÁNICOS POR BACTERIAS ENDOFÍTICAS DE <i>Anacardium othonianum</i> Rizzini.
<b>B-24</b>	Marion, Federico	ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE UN GÉNERO NUEVO PARA ARGENTINA, <i>Laetisaria</i> .

#### Área Temática: Microbiología de ambientes naturales - Microbiología terrestre

Código	Autor presentador	Título
<b>B-25</b>	Moguilevsky, Denise	COMUNIDADES FÚNGICAS Y SU RELACIÓN CON LA REGENERACIÓN NATURAL EN BOSQUES DE <i>Nothofagus pumilio</i> AFECTADOS POR LA ERUPCIÓN DEL COMPLEJO VOLCÁNICO PUYEHUE CORDÓN CAULLE.
<b>B-26</b>	Marcos, Magalí	INCREMENTO DE LA ABUNDANCIA DE BACTERIAS OXIDADORAS DE AMONÍACO DE SUELOS DEL MONTE PATAGÓNICO EN RESPUESTA A LA HUMEDAD DEL SUELO Y A LA CALIDAD DEL MANTILLO VEGETAL.
<b>B-27</b>	Mestre, María Cecilia	FORMACIÓN DE BIOFILMS POR PARTE DE LEVADURAS DE SUELO DE BOSQUES NATIVOS DE LA PATAGONIA ARGENTINA.
<b>B-28</b>	Statello, Marina	HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EXTREMÓFILOS DE ARGENTINA: ESTUDIO DE LA TOLERANCIA FRENTE A DIVERSOS TIPOS DE ESTRÉS AMBIENTAL.

#### Área Temática: Microbiología en ambientes antropizados - Biofilms y Biodeterioro

Código	Autor presentador	Título
<b>B-29</b>	Del Panno, María Teresa	MICROORGANISMOS COLONIZADORES DE PELÍCULAS POLIMÉRICAS HÍBRIDAS DE PULIURETANIO/POLIACRÍLICOS.
<b>B-30</b>	Rastelli, Silvia Elena	EVALUACIÓN DEL USO DE EXTRACTOS VEGETALES ACUOSOS COMO ADITIVOS ANTIFÚNGICOS PARA PINTURAS.
<b>B-31</b>	Rastelli, Silvia Elena	EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE TIMOL, GUAYACOL, EUGENOL Y ANISOL SOBRE DIFERENTES CEPAS BACTERIANAS.
<b>B-32</b>	Nievas El Makte, Marina	FORMACIÓN DE BIOFILM DE MICROORGANISMOS MARINOS DEGRADADORES DE HIDROCARBUROS: INFLUENCIA DEL SUSTRATO DE CRECIMIENTO.

### Área Temática: Microbiología en ambientes antropizados

Código	Autor presentador	Título
B-33	Aguirre Belquis, Pamela	CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA ESPACIO-TEMPORAL DE PLAYAS CON USO RECREACIONAL DEL EMBALSE SAN ROQUE, CÓRDOBA, ARGENTINA.
B-34	Rodrigues Cassiolato, Ana María	ACTIVIDAD MACROBIÓTICA Y PRODUCTIVIDAD DEL <i>Jatropha curcas</i> L. CRECIDO EN SUELO DEGRADADO.
B-35	Ferrerri, Natalia Analía	AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE HONGOS DE SUELO ASOCIADO A DESAGÜES CLOACALES EN LA PLAYA PALO BLANCO, CIUDAD DE BERISSO, PROVINCIA DE BUENOS AIRES.
B-36	Domínguez, Johana Elizabeth	ESTABLECIMIENTOS AVÍCOLAS ¿RESERVORIO DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS?
B-37	Redondo, Leandro Martín	<i>Clostridium perfringens</i> EN INVERTEBRADOS MARINOS COMO INDICADOR DE CONTAMINACION FECAL.

### Área Temática: Microbiología en ambientes antropizados - Tratamiento de residuos sólidos y líquidos

Código	Autor presentador	Título
B-38	Lett, Lina A. C.	INOCUIDAD DE COMPOST DE RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS CON DISTINTAS EXPERIENCIAS DE COMPOSTAJE.
B-39	Ceretta, María Belén	MONITOREO DE VARIABLES DE OPERACIÓN DE UN REACTOR BATCH PARA LA DEGRADACIÓN DE AGUAS DE SENTINAS DEL PUERTO DE MAR DEL PLATA.
B-40	Ceretta, María Belén	TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES TEXTILES POR CONSORCIO BACTERIANO AUTÓCTONO.
B-41	Gorino, Natalia Marina	BIOTRANSFORMACIÓN DE CROMO (VI) POR UNA CEPA BACTERIANA AUTÓCTONA EN EFLUENTES LÍQUIDOS Y AGUAS CONTAMINADAS.
B-42	Spatola Rossi, Tatiana	DINÁMICA DE LA COMUNIDAD MICROBIANA ASOCIADA AL TRATAMIENTO ANAERÓBICO DE EFLUENTES.

### Área Temática: Microbiología en ambientes antropizados - Monitoreo y Biorremediación de ambientes contaminados

Código	Autor presentador	Título
B-43	Macchi, Marianela	ESTUDIO DE LA FUNCIONALIDAD DE CONSORCIOS DEFINIDOS DURANTE LA DEGRADACIÓN DE FENANTRENO.
B-44	Cecotti, Martina	EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL SURFACTANTE TRITÓN X - 100 SOBRE LA CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE LOS PAH Y LA DINÁMICA DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DEL SUELO.
B-45	Ciancio, Lucila	AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS BACTERIAS OXIDANTES DE MANGANESO (II).
B-46	Reyes Reyes, Maria Andrea	INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS BACTERIANAS DEGRADADORAS DE PETRÓLEO CRUDO EN MATRICES ORGÁNICAS NATURALES Y SINTÉTICAS.
B-47	Farrando, Silvina	HUMEDALES: UNA ALTERNATIVA PARA EL RE USO DEL AGUA.
B-48	Fortunato, María Susana	DEGRADACIÓN DE AMOXICILINA POR UNA COMUNIDAD BACTERIANA AUTÓCTONA.
B-49	García, María Cecilia	EFECTO DE ENZIMAS BACTERIANAS DESNITRIFICANTES Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN REMEDIACIÓN BIOLÓGICA DE AGUA.
B-50	Ghezzi, Daniela Fernanda	AISLAMIENTO DE CEPAS NATIVAS DE HONGOS SAPROBIOS EN LA CUENCA MATANZA-RIACHUELO.
B-51	Gorino, Natalia Marina	REDUCCIÓN DE CROMO (VI) POR MICROORGANISMOS RESISTENTES PROVENIENTES DEL RÍO DE LA PLATA.
B-52	Sayago, Pamela	AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS EN TRATAMIENTOS DE FITORREMEDIACIÓN EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBURO.
B-53	Piazza, Ainelén	BÚSQUEDA DE NUEVAS PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA OXIDACIÓN DE MANGANESO (II).
B-54	Dávila, Virginia	SELECCIÓN DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS Y DE SUELO, RESISTENTES A ELEVADAS CONCENTRACIONES DE As III Y CON POTENCIAL DE PROMOVER EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE VID; DEL DEPARTAMENTO DE JACHAL, PROVINCIA DE SAN JUAN, ARGENTINA.
B-55	Zaballa, Ignacio José	EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO POR PARTE DE MICROALGAS Y BACTERIAS INMOVILIZADAS.
B-56	Carranza, Cecilia Soledad	<i>Aspergillus oryzae</i> AISLADOS DE SUELOS AGRÍCOLAS, POTENCIALES DEGRADADORES DE CLORPIRIFÓS.

### Otras Áreas temáticas - Bioprospección y conservación de microorganismos nativos

Código	Autor presentador	Título
B-57	Sauka, Diego	DETERMINACIÓN DE CARACTERES FENOTÍPICOS Y GENOTÍPICOS DE AISLAMIENTOS NATIVOS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> OBTENIDOS DE SUELOS DE DISTINTAS REGIONES ECOLÓGICAS.
B-58	Ferreras, Julián Alberto	CARACTERIZACIÓN INICIAL DE AISLADOS DE ACTINOMYCETES AISLADOS DE MUESTRAS DE SUELO DE MISIONES Y CORRIENTES Y SU POSIBLE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.
B-59	Mercado, Laura	COLECCIÓN DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A VID Y VINO, HERRAMIENTA PARA LA CONSERVACIÓN Y VALORACIÓN DE RECURSOS GENÉTICOS MICROBIOLÓGICOS DE MENDOZA, ARGENTINA.
B-60	Mercado, Laura	EL ECOSISTEMA DEL VIÑEDO, RESERVORIO DE RECURSOS GENÉTICOS MICROBIOLÓGICOS EXPUESTO A LOS EFECTOS DE LAS PRÁCTICAS VITÍCOLAS Y ENOLÓGICAS.
B-61	Pattarino, Luciana	SELECCION DE UNA CEPA NATIVA DE <i>Saccharomyces cerevisiae</i> PARA LA PRODUCCIÓN NACIONAL DE SIDRA Y ESTUDIO DE SU CAPACIDAD PARA DISMINUIR LA CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINAS.
B-62	Oncó, María Inés	LARVAS DE <i>Cydia pomonella</i> COMO FUENTE DE AISLAMIENTO DE <i>Bacillus thuringiensis</i> .

### Otras Áreas temáticas - Microbiología general e industrial

Código	Autor presentador	Título
B-63	Pérez, Jonas José	EFFECTOS DE LA INOCULACIÓN DE TRIGO CON <i>Azospirillum brasilense</i> Az39 Y <i>Pseudomonas fluorescens</i> ZME4 ENTRAMPADAS EN ESFERAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA.
B-64	Stenglein, Sebastián	PRODUCCIÓN DE PENICILINA ACILASAS DE AISLAMIENTOS DEL GÉNERO <i>Penicillium</i> OBTENIDOS DE SUELOS DE LA ARGENTINA.

### Otras Áreas temáticas - Ecología microbiana y microbiología funcional

Código	Autor presentador	Título
B-65	Rodríguez, Mauricio	BIOPROSPECCIÓN DIRIGIDA COMO ESTRATEGIA PARA LA OBTENCIÓN DE CULTIVOS MIXTOS FIJADORES DE NITRÓGENO PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS.

<b>B-66</b>	Albarracín, Virginia	ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A RADIACIÓN UV-B DE <i>ACINETOBACTER</i> Ver3, UNA PROTEOBACTERIA .EXTREMOFILA AISLADA DE LAGUNAS ANDINAS.
<b>B-67</b>	Forte Giacobone, Ana Florencia	LIMITACIONES EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS PARA RIEGO CON AZUL DE METILENO Y LUZ VISIBLE.
<b>B-68</b>	Di Salvo, Luciana Paula	INTERACCIÓN ESTABLECIDA ENTRE DIFERENTES CULTIVOS DE GRANO Y LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA.
<b>B-69</b>	Lima, María Alejandra	COMUNIDADES MICROBIANAS TOLERANTES A ARSÉNICO.
<b>B-70</b>	Medina, Virginia	IMPORTANCIA DE LA SOJA SOBRE LA FLORA BACTERIANA INTESTINAL DE LA CHINCHE VERDE.

#### Otras Áreas temáticas - Genómica, transcriptómica y metagenómica

Código	Autor presentador	Título
<b>B-71</b>	Lozada, Mariana	METAGENÓMICA DE AMBIENTES COSTEROS FRÍOS ANTÁRTICOS Y SUBANTÁRTICOS.
<b>B-72</b>	Orlowski, Juan Félix	ECOLOGÍA MICROBIANA DEL SUELO: ANÁLISIS DE REDES SOBRE DATOS METAGENÓMICOS.
<b>B-73</b>	Príncipe, Analía	PRODUCCIÓN DE BACTERIOCINAS EN <i>Pseudomonas</i> PGPRs: UNA HERRAMIENTA PARA LA SUPERVIVENCIA DE LAS BACTERIAS EN LA RIZÓSFERA.
<b>B-74</b>	Fontana, Paola Daniela	PROYECTO GENOMA DE <i>Acidovorax avenae</i> cepa T10_61, AGENTE CAUSAL DE ESTRÍA ROJA EN CAÑA DE AZÚCAR.
<b>B-75</b>	Macchi, Marianela	ESTUDIO <i>IN SILICO</i> DE LOS PRODUCTOS GÉNICOS RELACIONADOS CON LA RUTA DE DEGRADACIÓN DE FENANTRENO DE UN CONSORCIO BACTERIANO.

#### Otras Áreas temáticas - Otros

Código	Autor presentador	Título
<b>B-76</b>	Chade, Miriam Estela	PREMEZCLA PARA PANIFICADOS A BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA. CONTROL MICROBIOLÓGICO DURANTE SU ALMACENAMIENTO.
<b>B-77</b>	Duo Saito, Rubí Azul	LEVADURAS ADAPTADAS AL FRÍO: TOLERANCIA AL ESTRÉS Y PRODUCCIÓN DE METABOLITOS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO.



<b>B-78</b>	Cristian E Guisande Donadio	AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA DE <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> AUTÓCTONA DE LA ZONA GEOTERMAL CAVIAHUE-COPAHUE Y SUS POSIBLES APLICACIONES EN BIOMINERÍA.
-------------	-----------------------------	---

**Microbiología de ambientes naturales - Microbiología Acuática, Marina y Glaciar**

<b>Código</b>	<b>Autor presentador</b>	<b>Título</b>
<b>B-79</b>	Fernández, Melania	SELECCIÓN DE BACTERIAS DE AMBIENTES TEMPLADOS-FRÍOS PARA CONFORMAR UN CONSORCIO MICROBIANO PARA SU USO EN ACUICULTURA.
<b>B-80</b>	Coria, Silvia	DETECCIÓN DE SECUENCIAS CORRESPONDIENTES AL GEN <i>mamA</i> EN SEDIMENTOS ANTÁRTICOS MARINOS Y LACUSTRES.
<b>B-81</b>	Hernández, Edgardo	VARIACION ESPACIAL Y ESTACIONAL DE LAS BACTERIAS MARINAS DE CALETA POTTER, ANTÁRTIDA.



# RESÚMENES



## ESTUDIO DE CEPAS AUTÓCTONAS DE ÁREAS CRÓNICAMENTE CONTAMINADAS CON HIDROCARBUROS PARA SU APLICACIÓN EN BIORREMEDIACIÓN.

Conde Molina D<sup>1</sup>, Liporace F<sup>1</sup>, Vázquez S<sup>2</sup>, Quevedo C<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación en Biotecnología, UTN FRD, San Martín 1171, Campana; NANOBIOTEC, UBA-CONICET, Junín 956 6° Piso, CABA. Email: dym2700@gmail.com

Los hidrocarburos representan uno de los grupos contaminantes más importantes tanto por su volumen como por las consecuencias que producen a corto y largo plazo sobre el medio ambiente. En este sentido, el desarrollo de nuevas metodologías compatibles con el medio ambiente para la remediación de ambientes contaminados es un objetivo ecológico prioritario. En este trabajo se estudiaron 5 cepas aisladas de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos en la Refinería R.H.A.S.A., en la zona del polo petroquímico Zárate-Campana, Pcia. de Buenos Aires, con el objetivo de plantear estrategias de biorremediación sitio-específico.

Las cepas TK1A2, MT1A, CO1A1, CO1A2, LG1A fueron identificadas de acuerdo con su perfil metabólico (test de API<sup>®</sup>, Biomerieux) y la secuencia parcial del gen ARNr 16S comparando contra bases de datos especializadas (EzTaxon y RDP). Además, se evaluó la capacidad degradadora de hidrocarburos de los aislamientos en cultivos en frascos Erlenmeyer conteniendo medio mínimo salino y una mezcla de hidrocarburos comerciales como fuente de carbono. También se evaluó el desarrollo en glicerol, co-producto agroindustrial de la región, como materia prima de bajo costo. Para cada uno de los aislamientos se valoraron el crecimiento microbiano y la disminución de la tensión superficial (como indicador de producción de compuestos tensioactivos) a lo largo del tiempo de incubación en presencia de las distintas fuentes de carbono.

Los aislamientos fueron identificados como pertenecientes a los géneros *Cellulosimicrobium*, *Ochrobactrum* y *Pseudomonas* (grupos de *P. fluorescens*, *P. stutzeri* y *P. aeruginosa*, según Mulet y col. 2012). Todas las cepas fueron capaces de crecer en medio con hidrocarburos o con glicerol como única fuente de carbono, obteniéndose valores de biomasa de 0,11 hasta 2,60 g/L, dependiendo de la cepa. En cuanto a las mediciones de la tensión superficial, no se observaron diferencias con respecto al control cuando los microorganismos fueron crecidos en presencia de hidrocarburos como única fuente de carbono. Asimismo, la cepa LG1A mostró una disminución de la tensión superficial de 23,30 mN/m en relación al control en los cultivos con glicerol. Estos resultados indican que todas las cepas aisladas son capaces de crecer en presencia de una mezcla de hidrocarburos o glicerol como únicas fuentes de carbono y que la cepa LG1A sería productora de tensioactivos en presencia de glicerol. En base a estos resultados, podemos concluir que las cepas aisladas ofrecen un alto potencial para su aplicación en bioprocesos conducidos a plantear distintas estrategias de remediación.

## ESTUDIO MICROBIOLÓGICO Y MOLECULAR DE COSTRAS BIOLÓGICAS PRESENTES EN SUELOS DEL NORTE DE CHILE

Muñoz A<sup>1</sup>, Ortiz C<sup>1</sup>, Wilkens M<sup>2</sup>, Muñoz F<sup>1</sup>, Fernández D<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Bioquímica Vegetal y Fitorremediación. <sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología Básica y Aplicada, Universidad de Santiago de Chile. Email: alejandro.munozro@usach.cl

Las costras biológicas (BSCs) son comunidades bióticas formadas por la asociación microorganismos como cianobacterias, bacterias, algas, hongos y líquenes, con partículas de suelo. Las BSCs son componentes estructurales y funcionales de muchos ecosistemas, sin embargo, su función en el área de la restauración de suelos perturbados ha sido poco estudiada. La rehabilitación de los suelos se basa en la presencia de comunidades microbianas que funcionan como facilitadoras de la colonización de otros organismos. Nuestro grupo de trabajo analizó la composición microbiana de 34 muestras de BSCs provenientes de 6 sitios geográficos ubicados en la Cuarta Región de Chile, zona caracterizada por presentar un clima que va desde desértico costero con nubosidad abundante, a clima de estepa templado-marginal, con elevada salinidad. Para evaluar la composición biológica de las costras, se realizó un análisis a través de amplificación de fragmentos de genes específicos para cianobacterias, microalgas, organismos fijadores de nitrógeno y hongos, mediante la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), seguido de la secuenciación de los fragmentos mediante la plataforma Illumina<sup>®</sup>. Con esta información, se realizó una identificación preliminar de las especies presentes en las costras mediante herramientas bioinformáticas. Paralelamente, las muestras de BSCs fueron cultivadas en medios BG11 y MDM y se efectuó una clasificación de las especies de cianobacterias cultivables utilizando las llaves de clasificación de Ji í Komárek. Los principales resultados han mostrado una elevada heterogeneidad en la composición de la población biológica de los suelos analizados. El análisis molecular indica homología con secuencias ya descritas, entre las que destaca la presencia de cianobacterias de los géneros *Microcoleus* sp., *Tolypothrix* sp. y *Oscillatoria* sp. De acuerdo al estudio morfológico de las cianobacterias cultivables, se observan filamentos aislados o formando redes complejas, como también algunas de crecimiento unicelular. Respecto a las especies bacterianas fijadoras de nitrógeno, se ha detectado la presencia de microorganismos de los géneros *Klebsiella* sp. y *Nostoc* sp. El análisis de secuencias amplificadas de microalgas y hongos ha mostrado alta heterogeneidad entre las distintas costras, destacando la existencia de organismos de los géneros *Trebouxia* sp. y *Cryptococcus* sp., respectivamente. Concluyendo, las BSCs analizadas presentan una alta tasa de variabilidad de microorganismos, evidenciada tanto por el análisis de secuencias específicas como por las características morfológicas en los cultivos.

## DEGRADACIÓN DE ATRAZINA POR EL AISLAMIENTO NATIVO *Arthrobacter* sp. AAC22 Y SU USO POTENCIAL PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE AMBIENTES ACUÁTICOS CONTAMINADOS

Bachetti R<sup>1</sup>, Caporalini F<sup>1</sup>, Planes E<sup>3</sup>, Porporatto C<sup>1</sup>, Agostini E<sup>2</sup>, Morgante C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IAP de Cs. Básicas y Aplicadas, UNVM; <sup>2</sup>Fac. de Cs. Exactas, Fco-Qcas y Nat, UNRC; <sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Industrial, San Martín, Buenos Aires. Email: romina\_bachetti@hotmail.com

La atrazina es un herbicida de elevada persistencia y con alto potencial para contaminar ecosistemas acuáticos, siendo frecuentemente detectado en aguas superficiales de Córdoba (0,06-4,96 µg/L). La biodegradación microbiana se reconoce como el principal mecanismo de disipación de este compuesto en el ambiente. En nuestro laboratorio, el aislamiento nativo de agua *Arthrobacter* sp. AAC22 tolerante a altas concentraciones de atrazina (1 mg.ml<sup>-1</sup>), es capaz de utilizar el herbicida como única fuente de N y presenta una elevada eficiencia de biodegradación. Los objetivos son: 1) detectar y cuantificar atrazina en aguas superficiales de la cuenca del río Tercero, Córdoba; 2) evaluar el efecto del bioaumentación con *Arthrobacter* sp. AAC22 sobre la degradación de atrazina en un ambiente acuático contaminado; 3) evaluar el efecto ecotoxicológico del bioaumentación sobre una población de algas unicelulares. Se determinó la presencia de atrazina (ELISA, Abraxis, USA) en aguas superficiales (10 sitios) en primavera de 2013 y en primavera y otoño de 2014. Se realizaron ensayos de bioaumentación con *Arthrobacter* sp. AAC22 (1x10<sup>7</sup> UFC.ml<sup>-1</sup>) en microcosmos con agua de Río Tercero-Pampayasta (RTP) enriquecidas con atrazina (10 y 100 µg.ml<sup>-1</sup>). Se determinó la concentración residual del herbicida mediante electroforesis capilar. Al finalizar el ensayo (48h) se analizó la toxicidad sobre algas verdes unicelulares de la especie *Pseudokirchneriella subcapitata* según la Norma IRAM 29111. Se incluyeron controles con o sin atrazina. El herbicida fue detectado en aguas superficiales en primavera de 2013 (90% de los puntos de monitoreo) en concentraciones de 0,1 a 2,1 µg.l<sup>-1</sup>. En otoño de 2014 se detectó en el 100% (0,06 a 4,96 µg.l<sup>-1</sup>) y en primavera de 2014 en el 90% (0,08 a 5 µg.l<sup>-1</sup>). En este estudio, las concentraciones encontradas en algunos puntos superaron frecuentemente los valores máximos de 1,8 µg.l<sup>-1</sup> considerado perjudicial para los organismos acuáticos (CCME, 2006) y de 2 µg.l<sup>-1</sup> para aguas continentales (Comunidad Europea, Directiva 2008/105/EC). La alta frecuencia de detección en agua, inclusive en épocas distantes al período de aplicación, demuestra la llegada y persistencia del herbicida en ambientes acuáticos de la región. Los ensayos de bioaumentación con *Arthrobacter* sp. AAC22 en microcosmos de RTP mostraron una rápida remoción del herbicida (100%) a las 48h, respecto de los controles sin bioaumentar. En los microcosmos control se observó un efecto tóxico de la atrazina (10 ó 100 µg.ml<sup>-1</sup>) sobre las algas (inhibición del crecimiento). Sin embargo, las muestras de agua resultantes del bioaumentación, en las que ocurrió la remoción total del herbicida, no produjeron efectos perjudiciales sobre esta especie de algas de agua dulce. En conjunto, el aislamiento nativo AAC22 promovió la efectiva degradación de atrazina en el ecosistema evaluado, por lo que destaca su posible aplicación en la biorremediación de ambientes acuáticos contaminados por actividad antrópica.

## ESTUDIO MICROBIOLÓGICO Y MOLECULAR DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DE SEDIMENTOS DE CURSOS DE AGUA DULCE AFECTADOS POR LA ACTIVIDAD HUMANA

Madueño L<sup>1</sup>, Coppotelli BM<sup>1</sup>, Terada C<sup>1</sup>, Vidal NC<sup>2</sup>, Oneto ME<sup>2</sup>, Del Panno MT<sup>1</sup>, Morelli IS<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>CINDEFI (Facultad de Ciencias Exactas-UNLP-CCT-La Plata-CONICET), <sup>2</sup>YPF-Tecnología, <sup>3</sup>CIC-PBA Email: lauramadueno@gmail.com

La autodepuración de los cursos de agua impactados por la actividad humana se basa principalmente en la sedimentación de los sólidos en suspensión. Este proceso de sedimentación crea un efecto memoria en los sedimentos del lecho, quedando registro de los diferentes de compuestos (orgánicos o inorgánicos) incorporados al curso de agua. Por otro lado, los sedimentos poseen una gran diversidad microbiana y concentración de biomasa, debido a sus condiciones inherentemente anaeróbicas y a la abundancia de fuentes de carbono, actuando como una biobarrera natural capaz de degradar los contaminantes orgánicos.

El objetivo de este trabajo fue desafiar las técnicas microbiológicas convencionales y los métodos moleculares de última generación, para determinar el potencial degradativo del microbioma nativo de una muestra de sedimento proveniente de un curso de agua dulce con historia de afectación con hidrocarburos.

Sobre la muestra de sedimento se realizaron recuentos de bacterias heterótrofas aerobias (placas de R2A) y anaerobias (extinción en Medio Fluido Tioglicolato), sulfato reductoras (extinción en Medio Postgate B), degradadoras de hidrocarburos alifáticos y degradadoras de policíclicos aromáticos (PAH) (NMP en medio mineral líquido y, como única fuente de Carbono y Energía, hexadecano o mezcla de PAH, respectivamente). La actividad microbiana total se determinó a través de la actividad de las enzimas deshidrogenasa e hidrolasa. Se extrajo el DNA total y se realizó PCR con cebadores dirigidos a genes funcionales vinculados a la degradación de hidrocarburos y pirosecuenciación del gen 16 rRNA.

Se obtuvieron recuentos con valores por gramo de sedimento seco de  $3,4 \times 10^5$  para bacterias heterótrofas aerobias,  $2,4 \times 10^6$  para heterótrofas anaerobias,  $2,2 \times 10^3$  para sulfatos reductoras,  $5,8 \times 10^2$  para bacterias degradadoras de hidrocarburos alifáticos y menores a  $6,0 \times 10^1$  para bacterias degradadoras de PAH. Fue posible detectar la actividad de enzimas deshidrogenasa e hidrolasa. A través de la amplificación con cebadores específicos se logró evidenciar la presencia de genes de la vía alta y baja de degradación de los PAH. Como resultados de la pirosecuenciación se obtuvieron 1031 secuencias. El análisis de las secuencias reveló la presencia de tres géneros de Archaea metanogénicas, *Methanobacterium*, *Methanospirillum* y *Methanolinea*. Dentro del dominio Bacteria se encontraron secuencias correspondientes a los géneros *Moorella* y *Syntrophus* característicamente relacionados con las rutas de degradación metanogénicas. Otro de los géneros predominantes corresponde a *Pseudomonas*, ampliamente reconocidas por su capacidad de degradar aeróbicamente hidrocarburos, tanto alifáticos como PAH.

Los ensayos seleccionados nos ha permitido detectar la presencia de microorganismos con la potencialidad de degradar hidrocarburos, tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. Ambas rutas degradadoras podrían aportar a la disminución de la concentración del contaminante.

## INFLUENCIA DE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE ADN EN EL ANÁLISIS DE POBLACIONES BACTERIANAS EN PLANTAS DE ALMACENAMIENTO DE PETROLEO

Dominici LE<sup>1</sup>, Viera MR<sup>1,3</sup>, Del Panno MT<sup>2,3</sup>

1 Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT-CONICET La Plata, CICPBA), 2 Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI-CONICET La Plata, UNLP), 3 Facultad de Ciencias Exactas UNLP  
Email:marisa.rviera@gmail.com

El almacenamiento es un elemento de gran valor en la explotación de los servicios de hidrocarburos debido a que actúa como un pulmón entre producción y transporte para absorber las variaciones de consumo; permite la sedimentación de agua y barros del crudo antes de despacharlo por oleoducto o a destilación y brinda flexibilidad operativa a las refinerías que actúan como punto de referencia en la medición de despachos de producto.

La sedimentación de agua y barros durante el almacenamiento trae aparejados problemas de contaminación microbiana conducentes a la acumulación de limo, corrosión de tanques y cañerías, emulsificación y degradación del producto.

El estudio de las comunidades microbianas en estos sistemas resulta de gran interés en particular las bacterias reductoras de sulfatos (BRS) consideradas como las responsables de un 80% del daño a través del proceso de corrosión influenciada microbiológicamente (CIM).

Para el control de la CIM es relevante el conocimiento de las poblaciones presentes, con el fin de establecer un criterio de selección de un tratamiento antimicrobiano adecuado.

Con la intención de aplicar métodos independientes de cultivo en el análisis microbiológico de agua de un tanque de almacenamiento, fueron empleados dos protocolos de extracción del ADN: un protocolo de extracción tradicional (tratamiento enzimático y purificación con isoaminoalcohol-cloroformo) y el Kit EZNA Extractionsoil (Omega Bio-Tek, GA, USA). Para evaluar la eficiencia de la extracción, cada muestra fue sometida a tres extracciones sucesivas. El ADN fue amplificado por PCR usando los cebadores para eubacterias (341F y 907R) y los específicos para BSR (Aps969F y Aps1603R). La aplicación de la técnica de extracción tradicional (TT) y la del kit (K) dieron rendimientos totales similares (517-540 ng/μl), aunque la eficiencia de cada etapa fue distinta, obteniéndose una relación porcentual de 70/25/5 con TT y 40/35/25 con K. Los productos de amplificación fueron sembrados en geles desnaturalizantes (DGGE) y analizados con el software GelComparII, con el coeficiente de correlación de Pearson. Fue evidenciado que la comunidad de eubacteria recuperada con el kit en la 1ra extracción fue diferente a la obtenida en la 2da y 3ra extracción. En cambio, con la técnica tradicional el resultado derivado del análisis del gel mostró gran similitud entre las comunidades de las tres extracciones (90,5%). Realizando el mismo análisis para la comunidad de BSR, las comunidades resultaron muy similares (90.8%) independientemente del orden de extracción y del método utilizado. De lo expuesto inferimos que para el análisis de eubacteria, una primera extracción con el kit representa una fracción de la diversidad detectada, debiendo considerarse la realización de extracciones sucesivas. En cambio con la técnica tradicional, el 70% del ADN recuperado en la primera extracción refleja la mayor diversidad bacteriana detectada en la muestra.

*Saccharomyces eubayanus*: ESTUDIOS GENÉTICOS Y BIOGEOGRÁFICOS DEL ANCESTRO DE LA LEVADURA LAGER EN PATAGONIA

Eizaguirre JI<sup>1</sup>, Peris D<sup>2</sup>, De los Ríos P<sup>3</sup>, Lopes C<sup>4</sup>, Rodriguez ME<sup>4</sup>, Hittinger C<sup>2</sup>, Libkind D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lab. Microbiología Aplicada y Biotecnología, Instituto de Investigación en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), CONICET – UNComahue, Bariloche, Argentina, <sup>2</sup>Laboratory of Genetics, Genome Center of Wisconsin, Wisconsin Energy Institute, DOE Great Lakes Bioenergy Research Center, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 53706, USA, <sup>3</sup>Lab. Ecología Aplicada y Biodiversidad, Univ. Católica de Chile, Temuco, Chile, <sup>4</sup>Grupo de Biodiversidad y Biotecnología de Levaduras, Inst. de investigación y desarrollo en Ing. de procesos, Biotecnología y Energías alternativas (PROBIEN), CONICET-UNComahue, Neuquén, Argentina. Mail: juani.eizaguirre@gmail.com

El descubrimiento y la descripción en la Patagonia Argentina de una nueva especie de levadura, *S. eubayanus*, parental del híbrido inter-específico *S. pastorianus* (utilizado a nivel mundial en la producción de cerveza Lager), abrió un campo sumamente fértil para la investigación, desarrollo e innovación. Este trabajo busca contribuir al conocimiento sobre la biogeografía de *S. eubayanus* a lo largo de la Patagonia Andina y la estructura genética de sus poblaciones.

Un estudio previo de MLST con 21 cepas *S. eubayanus* mostró dos genes, COX2 (mitocondrial) y DCR1 (nuclear), útiles para detectar variabilidad intra-específica en las poblaciones patagónicas, este análisis además permitió diferenciar entre dos poblaciones de esta especie a lo largo de la Patagonia. Para nuestro trabajo se estudiaron más de 200 cepas de *S. eubayanus* aisladas de diversos sustratos (suelo, corteza, hojas y *Cyttaria* spp.) asociados principalmente a árboles del género *Nothofagus* de Argentina y Chile. Se secuenciaron, alinearon y analizaron los genes COX2, DCR1 e IntRF (nuclear), seleccionado a partir de datos genómicos. Por otra parte, se generó una base de datos de los aislamientos con coordenadas de origen, altitud, tipo de sustrato, árbol hospedador y otros parámetros ecológicos como son precipitaciones, radiación y temperaturas. Se realizaron test de Mantel de correlación entre datos genéticos y ecológicos. Las secuencias del gen COX2 generaron 20 haplotipos y mostraron 7 cepas de *S. eubayanus* que poseen introgresiones de *S. uvarum*, ambas especies simpátricas de la Patagonia Andina. Si bien no se logró encontrar correlación entre distancia genética y geográfica, la topología de la red filogenética generada a partir de este gen muestra cómo se agrupan las cepas aisladas por debajo del paralelo 43, lo que apoya la hipótesis de una barrera geográfica ubicada en esa región debido a glaciaciones. El gen DCR1 nos permitió discriminar entre las dos poblaciones, el 29% de las cepas analizadas forma parte de la población “A” que se ubica al norte de la Patagonia, y la población “B” consta del 71% de las cepas estudiadas y se posiciona a lo largo de toda la Patagonia. Asimismo, se evidenció aislamiento por distancia y se observó correlación entre la distancia genética y la temperatura promedio. El árbol filogenético generado con las secuencias del gen IntRF no solo permitió evidenciar las dos poblaciones de *S. eubayanus* sino que también mostró las subpoblaciones (2 en la población A y 3 en la población B) que se obtuvieron a partir de datos genómicos con pocas cepas. La correlación entre datos genéticos y ecológicos nos ayudó a entender mejor la historia evolutiva de esta especie, y brindó herramientas para poder diferenciar subgrupos de *S. eubayanus*, abriendo un abanico de posibilidades a la hora de usar estas levaduras en la producción de cerveza regional y pudiendo dar un perfil único a las cervezas de la Patagonia Argentina.



LAS COMUNIDADES DIAZÓTROFAS PRESENTES EN DIFERENTES SUELOS  
¿DETERMINAN LAS COMUNIDADES ESTABLECIDAS COMO ENDÓFITAS DE RAÍCES  
DE ARROZ?

Martínez A, Fernández A, Ferrando L

Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental, Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, UdelaR. Montevideo, Uruguay. Email: [andremarpe@gmail.com](mailto:andremarpe@gmail.com)

Los suelos utilizados con fines agrícolas sufren cambios importantes a lo largo de los ciclos sucesivos de cultivos, que afectan en muchos casos la fertilidad y biodiversidad del suelo. El gran aporte que realizan muchas de las bacterias endófitas a la promoción de crecimiento vegetal es bien conocido, en particular, las fijadoras de nitrógeno (diazótrofas). Las bacterias endófitas provienen principalmente del suelo, por lo que diferencias importantes en su composición pueden determinar y/o afectar a la flora microbiana establecida en los tejidos internos de las plantas. El objetivo de este trabajo fue determinar la estructura y la diversidad de las comunidades diazótrofas de vida libre presentes en siete suelos agrícolas uruguayos y las establecidas como endófitas en raíces de plantas de arroz cultivadas en estos suelos, bajo condiciones controladas. Para esto se realizó un ensayo de crecimiento de plantas de arroz durante 25 días (diseño DCA, 7 tratamientos, duplicados, arroz variedad INIA El Paso 144) utilizando diferentes suelos y semillas desinfectadas superficialmente. Se utilizaron las técnicas T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) y pirosecuenciación 454 del gen *nifH* como marcador funcional, para el estudio de la estructura y diversidad de las comunidades diazótrofas tanto en los suelos como en las raíces de las plantas de arroz desinfectadas provenientes del ensayo. Los resultados obtenidos tanto por T-RFLP como por pirosecuenciación del gen *nifH* revelaron que las comunidades diazótrofas presentes en los suelos resultaron significativamente más diversas que las establecidas en el interior de las raíces. Además, de acuerdo a los análisis de agrupamiento realizados de los resultados por ambas metodologías, las comunidades establecidas en los distintos suelos presentaron mayor similitud entre ellos (entre 30 y 40%) que las comunidades endófitas de las raíces crecidas en los mismos (menor a 10%). Las secuencias obtenidas mediante pirosecuenciación se agruparon en un total de 122 OTUs diferentes (90% similitud de secuencia de aa). Las comunidades diazótrofas de suelo se encuentran dominadas por unas pocas OTUs, diferentes a las predominantes en las comunidades endófitas de arroz. Actualmente se está realizando la afiliación filogenética de las OTUs dominantes tanto en suelo como en raíces de arroz. Estos resultados sugieren que la planta de arroz podría estar jugando un rol importante en la selección de un grupo restringido de especies diazótrofas que efectivamente colonizan la raíz y logran establecerse.

INTERACCIONES CELULARES MEDIADAS POR MOLÉCULAS *QUORUM* COMO  
HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA PARA EL DESARROLLO DE CONSORCIOS  
BACTERIANOS PGPRs

Castaño C, García Arhex P, Pagliero F, Lorda G

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de La Pampa. Email:  
lorda@exactas.unlpam.edu.ar

Históricamente, las interacciones entre especies se han centrado en fenómenos de inhibición del crecimiento. Sin embargo, en la actualidad, gran variedad de reportes han demostrado distintos efectos benéficos, incluyendo procesos tales como la esporulación, formación de biopelículas, producción de metabolitos secundarios, como así también sobre la nodulación y fijación de nitrógeno. La generación de consorcios en laboratorio es una herramienta que permite estudiar dichas interacciones y, de esta manera, lograr un mejor entendimiento de los mecanismos que hacen de dichos consorcios, potenciales productos a ser utilizados industrialmente. En este sentido, entonces, un aspecto a tener en cuenta en comunidades bacterianas es el fenómeno conocido como *quorum sensing*, mediante el cual la producción de moléculas señal *quorum* del tipo acil homoserina lactonas (AHLs) actúan como reguladores para una multiplicidad de respuestas que generan cambios en el comportamiento de las poblaciones bacterianas. Así, la presencia de diferentes tipo de moléculas AHLs, podrían provocar cambios en procesos fisiológicos tales como el comportamiento simbiótico de los rizobios. El objetivo general de este trabajo fue estudiar las interacciones entre los diferentes géneros bacterianos promotores del crecimiento vegetal, como base para el desarrollo de consorcios generados a partir del crecimiento conjunto de los mismos. Para ello se evaluó la performance simbiótica de *Bradyrhizobium japonicum* frente al agregado de moléculas señal *quorum* del tipo AHLs, homólogas y heterólogas, producidas en cultivos de alta densidad celular. Adicionalmente, se evaluó el rendimiento simbiótico de *B. japonicum* a partir de la aplicación de consorcios bacterianos generados en cultivos conjuntos, o sea en un mismo medio de cultivo durante un único proceso fermentativo. Para cumplimentar estos objetivos, se trabajó con las cepas de *B. japonicum* E109 (B), *A. brasilense* AZ39 (A); *P. fluorescens* P3 (P) y con los respectivos extractos de moléculas de AHLs de cada uno de los microorganismos. En estudios preliminares se determinó que todas las cepas bacterianas estudiadas producen molécula señal quorum del tipo AHLs y además, no se produce inhibición de crecimiento entre los diferentes géneros. La densidad celular está asociada con la producción de estas moléculas. Por otra parte, se formularon consorcios bacterianos con estas cepas a partir de cultivos conjuntos de las mismas. Para estudiar el efecto de las moléculas AHLs, se inocularon plantas de soja con cultivos de (B) adicionado de AHLs homólogas y heterólogas provenientes de cultivos de (A), (P) y de (A+P). Por otro lado, a fin de evaluar la incidencia de consorcios bacterianos generados a partir del co-cultivo de las cepas, se inocularon plantas con cultivos de (B+A) y (B+A+P). También se incluyeron los tratamientos control: no inoculados, fertilizados con nitrógeno inorgánico y coinoculados con (A), (B) y (P) desde cultivos independientes. Todos los resultados fueron analizados según el test de Tukey ( $p < 0.05\%$ ). Asumiendo la habilidad de los microorganismos para censar AHLs heterólogas, estos estudios mostraron que el efecto es dependiente del microorganismo productor de la molécula señal. En presencia de AHLs provenientes de (A), no se observan diferencias en el contenido de nitrógeno ni en el peso seco respecto del cultivo inoculado solo con (B). Sin embargo este efecto es significativo cuando se adicionan AHLs provenientes de cultivos de (P). Respecto de los tratamientos inoculados con los tres microorganismos co-cultivados, se pudo observar una diferencia significativa en cuanto al contenido de nitrógeno en la planta. Estos resultados permiten concluir que es beneficiosa la metodología de co-cultivo para la generación de consorcios a ser utilizados como biofertilizantes, que se puede atribuir a la interacción mediada por moléculas quórum del tipo AHL.

## BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO REDUCEN LOS EFECTOS NEGATIVOS DE As SOBRE PLANTAS DE VID

Funes Pinter I, Salomon MV, Berli F, Bottini R, Piccoli P

Laboratorio de Bioquímica Vegetal, Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Almirante Brown 500, M5528AHB, Chacras de Coria, Argentina. Email: ifunespinter@fca.uncu.edu.ar

El arsénico (As) es un metaloide ampliamente distribuido en la corteza terrestre que constituye un serio riesgo para la salud humana, especialmente en zonas de cultivo. El uso de bacterias de suelo que incrementen la tolerancia a contaminantes en cultivos es una solución viable, económica y de bajo impacto en el ambiente. En el presente trabajo se buscó seleccionar bacterias resistentes a As, con capacidad de promover el crecimiento vegetal, que incremente la resistencia a As de barbechos de vid (*Vitis vinifera* cv. Malbec) en brotación. Previamente se habían aislado e identificado bacterias a partir de raíces y rizósfera de vid, de las cuales se seleccionaron *Bacillus licheniformis*, *Micrococcus luteus* y *Pseudomonas fluorescens*, por su resistencia a NaAsO<sub>2</sub>. Se determinó la capacidad de estas cepas de producir sideróforos, solubilizar fosfatos y fijar nitrógeno atmosférico, en presencia de NaAsO<sub>2</sub> 0, 5 y 10 mM, pH 7 y 9. En el ensayo de inoculación de las cepas en barbechos de vid, se utilizó un sistema factorial con dos niveles de As (regando o no con 0,1 mM NaAsO<sub>2</sub>) y cinco niveles de bacteria (control sin bacterias, inoculando con *B. licheniformis*, *M. luteus*, *P. fluorescens* y mezcla de las tres bacterias), combinando aleatoriamente los 10 tratamientos (2 x 5), con 7 repeticiones. El ensayo duró 60 días, se realizó en invernáculo, y se utilizaron macetas de 10 L (sustrato arena:perlita 1:1, v/v). Las inoculaciones bacterianas se realizaron cada 15 días, aplicadas tanto en el cuello de las plantas como asperjadas en hojas. En los tratamientos con As, las plantas fueron regadas periódicamente con una solución de NaAsO<sub>2</sub> 0,1 mM. Para medir el efecto de los tratamientos, al final del ensayo se determinó la longitud de brotes, área foliar, n° de hojas, y eficiencia fotosintética (Fv/Fm). Todas las variables relacionadas con el crecimiento vegetativo (biomasa aérea) disminuyeron por la presencia de As en el agua de riego; sin embargo la disminución fue menor en las plantas inoculadas con bacterias (interacción significativa). El tratamiento inoculado con la combinación de las tres bacterias fue el que mejor se comportó ante la presencia de As, manteniendo el crecimiento vegetativo a tasas similares al control sin As. La eficiencia del fotosistema aumento por efecto de las bacterias, y la integridad del sistema fotoquímico se afectó por As solamente en el tratamiento control (Fv/Fm=0,66). Los resultados obtenidos sugieren que la aplicación de bacterias promotoras del crecimiento es beneficiosa para la planta de vid cuando crece en presencia de As, y este efecto promotor del crecimiento es mayor cuando las bacterias se inoculan en consorcio.

## EL DÉFICIT HÍDRICO AFECTA LOS EVENTOS TEMPRANOS Y TARDÍOS DE LA INTERACCIÓN *Arachis hypogaea* – *Bradyrhizobium*

Cesari AB, Paulucci NS, Dardanelli MS

Departamento de Biología Molecular, FCEFQyN, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba Argentina. E-mail: mdardanelli@exa.unrc.edu.ar

*Arachis hypogaea* (maní) es una leguminosa de importancia económica en Argentina y actualmente su cultivo se enfrenta a episodios de sequía, que afectan el crecimiento y la productividad. Durante los últimos años se ha incrementado el uso de microorganismos para mejorar el rendimiento de los cultivos, su sanidad, y tolerancia al estrés. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del déficit hídrico sobre los eventos tempranos (adhesión) y tardíos (nodulación) de la interacción entre maní-*Bradyrhizobium*.

*Bradyrhizobium* SEMIA 6144 fue crecido hasta fase estacionaria con y sin PEG 15mM para simular déficit hídrico (-0,28 MPa). Las células se utilizaron para evaluar la capacidad adhesión a raíces de maní, por recuento de viables/mg de raíz adheridas tras 2 h de incubación. Para el ensayo con plantas los tratamientos fueron: control inoculado con SEMIA 6144, déficit hídrico inoculado con SEMIA 6144 y sus correspondientes ensayos sin inocular. Semillas de maní pre germinadas fueron colocadas en vasos con vermiculita e inoculadas con SEMIA 6144 ( $10^8$  viables/ml por semilla) e incubadas asépticamente por 33 días en cámara. A los 5, 7, 9, 11, 15, 18, 22, 25, 30 y 33 días se obtuvieron plantas para el estudio de cinética de nodulación. Al cabo de los 33 días, se analizaron longitud (cm), peso seco (mg) y número de nódulos por planta.

En nuestro trabajo, observamos que la adhesión de SEMIA 6144 a raíces de maní en condiciones de déficit hídrico fue un 28 % superior al control. En relación a la cinética de nodulación, se observó que los nódulos se desarrollaron desde el día 5 hasta el día 33, alcanzando un valor de 65 nódulos/planta a los 33 días en condición control. En condiciones de déficit hídrico la curva de la cinética disminuyó entre los días 7 y 33, con una reducción del 43% en el número de nódulo/planta al finalizar el ensayo. Bajo esta condición, también se modificó la distribución espacial de los nódulos, disminuyéndose el número de nódulos en raíz principal en un 58% e incrementándose un 23% en raíces laterales. Las plantas controles inoculadas con SEMIA 6144 mostraron mayor desarrollo aéreo, registrándose un aumento de la biomasa seca aérea de un 56% respecto a plantas sin inocular. La inoculación de las plantas logró mitigar los efectos negativos del déficit hídrico sobre el crecimiento. La longitud de la parte área y radical, las plantas estresadas e inoculadas superaron a las plantas estresadas sin inocular, alcanzando valores similares a los controles. Se observaron incrementos en el peso seco aéreo (54%) y radical (33%) comparado con plantas estresadas sin inocular. En condiciones de déficit hídrico, SEMIA 6144 fue capaz de mantener su diálogo molecular con maní y adherirse a las raíces, logrando con éxito la nodulación de las raíces. A pesar de que la cinética de nodulación se afectó negativamente, el efecto benéfico de dicha interacción logró mitigar los efectos del déficit hídrico sobre el desarrollo de la planta.

CAMBIO DE LA DIVERSIDAD FUNCIONAL Y USO DE SUSTRATO EN LA  
COMUNIDAD MICROBIANA DE SUELOS EXPUESTOS A GLIFOSATO

Romano-Armada N<sup>1</sup>, Amoroso MJ<sup>2</sup>, Rajal VB<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI), UNSa – CONICET; Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta, Avenida Bolivia 5150, Salta Capital, 4400, Argentina,

<sup>2</sup>Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos, CONICET Email: nelir000@gmail.com

Las comunidades microbianas en el suelo regulan el funcionamiento del ecosistema y son indicadoras del impacto antrópico ya que su respuesta fisiológica refleja los cambios en las condiciones ambientales. La estructura de la comunidad puede ser medida y descripta en términos de diversidad funcional. El perfil fisiológico de la comunidad (CLPP del inglés *Community Level Physiological Profile*), refleja su potencial catabólico, independientemente de las especies que la conforman. Un ecosistema con una alta diversidad funcional es más eficiente en cuanto a productividad, resiliencia y resistencia.

El objeto de este trabajo fue analizar si ocurrían cambios en la diversidad funcional y los patrones de consumo de las comunidades microbianas del suelo debido a la aplicación de glifosato.

Se recolectaron cinco muestras de tres suelos distintos en parcelas adyacentes. Uno de ellos, con cobertura natural, fue sometido a perturbaciones sucesivas por fumigación con glifosato (RF1: sin fumigar; RF2: 24 h después de la primera fumigación; RF3: un mes después de la segunda fumigación). Los otros dos suelos fueron cultivados, con una antigüedad de fumigación continua de 5 años (RF4: monocultivo de maíz; RF5: secuencia de cultivos de poroto y garbanzo). La caracterización del CLPP de las muestras se realizó mediante el sistema EcoPlate® de Biolog® y con los datos se calcularon la respuesta metabólica promedio (*RMP*) y los índices de diversidad: Riqueza de uso de sustrato (*R<sub>s</sub>*), Shannon-Wiener (*H'*) y Pielou (*J'*).

Según el índice *J'* el consumo de fuentes de carbono fue uniforme en todas las muestras, aunque varió el número y tipo de sustratos utilizados. La diversidad funcional disminuyó con el incremento de perturbaciones por fumigación (*R<sub>s</sub>* de 25 a 13 y *H'* de 3,1 a 2,4). Los suelos con cobertura vegetal natural presentaron mayor potencial catabólico (*RMP* = 0,55±0,41) que aquellos cultivados (*RMP* = 0,17±0,04), y el uso de sustratos se registró a partir del tiempo cero, mientras que esto ocurrió a partir de las 48 h de inoculación para los suelos cultivados. En las muestras con cobertura natural se vio un efecto a corto plazo de disminución del potencial catabólico de la comunidad microbiana tras la fumigación (RF2) respecto al suelo sin fumigar (RF1). Sin embargo, aunque en la tercera muestra se provocaron dos eventos de perturbación (RF3), dado un período de restauración se vio una recuperación en el potencial catabólico, aproximándose la curva de RF3 al comportamiento de consumos de sustrato de RF1. También se vio un incremento de consumo de polímeros y aminoácidos con el aumento de perturbaciones con glifosato, detectando diferencias significativas en el consumo de D-Manitol, L-Fenilalanina, ácido-D-glucosamínico, L-arginina y ácido 4 hidroxibenzoico.

El análisis de CLPP reveló menor diversidad funcional y potencial catabólico en los suelos con aplicación de glifosato. También reducción del consumo de D-manitol y ácido-D-glucosamínico al aumentar las aplicaciones.

INFLUENCIA DEL USO DE LA TIERRA SOBRE LA DIVERSIDAD DE *Trichoderma* EN SUELOS DEL NOA

Vogrig JA, Montecchia MS, Tosi M, Chiocchio VM, Correa OS

Cátedra de Microbiología Agrícola e INBA, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.  
Av. San Martín 4453, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Email: vogrig@agro.uba.ar

La presencia y actividad de *Trichoderma* spp. en los suelos agrícolas es de importancia debido a sus múltiples funciones benéficas, incluyendo su actividad antagónica contra hongos fitopatógenos. Previamente, hemos observado una disminución en la frecuencia de *Trichoderma* activo relacionado con el cambio en el uso de la tierra en el NOA. Para evaluar la influencia del cambio de uso sobre la diversidad de *Trichoderma*, en este estudio se analizó una colección de cepas provenientes de suelos prístinos y cultivados con soja de una finca de Salta. Además, se evaluó el antagonismo de las cepas contra *Macrophomina phaseolina*, uno de los patógenos más importante de este cultivo. La colección de cepas se obtuvo a partir del micelio activo presente en 3 lotes agrícolas con 7, 13 y 32 años de uso y en el suelo prístino adyacente. De las 20 cepas aisladas, 10 pertenecen a los lotes agrícolas y 10 al suelo prístino. La caracterización genotípica inicial de las cepas se realizó mediante rep-PCR (*repetitive sequence-based PCR*) con los sets de cebadores ERIC y (GTG)<sub>5</sub>, utilizando ADN genómico de cultivos monospóricos. Los perfiles obtenidos se compararon utilizando Pearson (r) y UPGMA. Cepas representativas de cada grupo de rep-PCR se identificaron a nivel de especie mediante análisis de secuencia de la región intergénica del operón ribosomal (ITS1 e ITS2) utilizando TrichOKEY. La actividad antagónica de las cepas contra *M. phaseolina* se determinó por cultivo dual en placa. Los perfiles de rep-PCR mostraron una alta diversidad entre las cepas analizadas. A una similitud del 50%, pudieron diferenciarse 5 ó 6 grupos entre las cepas (ERIC-PCR y GTG-PCR, respectivamente). Se identificaron 4 especies: *T. koningiopsis* (1 cepa), *T. longibrachiatum* (1 cepa), *T. ghanense* (3 cepas) y *T. harzianum* (15 cepas). Las especies *T. koningiopsis* y *T. ghanense* se encontraron solo en suelos agrícolas mientras que *T. longibrachiatum* solo en el suelo prístino. *T. harzianum*, la especie predominante, se encontró presente tanto en suelos agrícolas como el prístino. Dos de las cepas de *T. ghanense* mostraron perfiles de rep-PCR casi idénticos ( $r > 98\%$ ), mientras que las cepas de *T. harzianum* mostraron 9 perfiles diferentes ( $r < 90\%$ ), indicando la presencia de 9 cepas distintas. Este resultado indica una alta diversidad intraespecífica de las cepas de *T. harzianum*, en particular entre las cepas aisladas del suelo prístino, las cuales mostraron 6 perfiles diferentes. En los ensayos de antagonismo, todas las cepas mostraron una alta actividad antagónica ( $> 50\%$  de inhibición) afectando el desarrollo de microesclerocios de *M. phaseolina*. El agrupamiento de las cepas según ERIC-PCR reflejó su identidad de especie, y constituye un método adecuado para la caracterización genotípica y el análisis de diversidad de *Trichoderma*. El cambio en el uso de la tierra afectó tanto la abundancia como la diversidad de *Trichoderma*, en particular la diversidad intraespecífica de *T. harzianum* en la finca analizada.

OCURRENCIA DE INTRONES DEL GRUPO II EN METAGENOMAS DE SEDIMENTOS  
SUBMAREALES DE DISTINTA PROCEDENCIA

Napolitano N<sup>1</sup>, Vázquez S<sup>2</sup>, Sjöling S<sup>3</sup>, Lundgren L<sup>4</sup>, Dionisi HB<sup>5</sup>, Lozada M<sup>5</sup>, Jansson J<sup>6</sup>, Mac Cormack WP<sup>7</sup>, Quiroga C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, (IMPaM) UBA-CONICET, <sup>2</sup>Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología, FFyB, UBA-CONICET, <sup>3</sup>School of Natural Sciences, Technology and Environmental Studies, Sodertorn University, Sweden, <sup>4</sup>School of Natural Sciences and Environmental Studies, Södertörn University, Sweden, <sup>5</sup>Centro Nacional Patagónico-CONICET, <sup>6</sup>Pacific Northwest National Laboratory, USA, <sup>7</sup>Instituto Antártico Argentino. Email: cc.quiroga@gmail.com

Los intrones del grupo II son enzimas de ARN o ribozimas que se encuentran ampliamente distribuidas en plantas, hongos, algas y bacterias. Estas ribozimas poseen diversas actividades, tales como *splicing* y movilización mediante un intermediario de ARN. Para lograr su forma activa óptima, el ARN de la ribozima se une a su cofactor, denominado IEP. Estos intrones invaden específicamente un genoma, función que depende de la estructura secundaria del ARN como de la presencia de su cofactor. La proteína IEP permite clasificar a los intrones del grupo II en diversas clases: cloroplasto (C11 y C12), mitocondrial (MI) y bacteriano (A a F). Los intrones del grupo II de la clase C se caracterizan por insertarse eficientemente *upstream* de terminadores transcripcionales o en los sitios de recombinación *attC* de los *cassettes* de resistencia a antibióticos. Estudios previos demostraron que al invadir genomas de patógenos bacterianos algunos intrones de la clase C colaboran con la multirresistencia antibiótica. Por otro lado, se postuló que intrones de la clase C se encontrarían formando parte de genomas de bacterias marinas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la ocurrencia de las distintas clases de intrones del grupo II en metagenomas de sedimentos submareales de dos zonas con diferente salinidad y determinar qué elementos dentro de esta familia de ribozimas son los más exitosos. Para ello, se analizaron 11 metagenomas, 6 de ellos procedentes de Caleta Potter, Isla 25 de Mayo (Rey Jorge), Antártida, y 5 del Mar Báltico en Vartahamnen, Suecia. La detección de las ribozimas se realizó mediante la búsqueda de homólogos de la proteína IEP usando 10 secuencias de referencia, que representan todas las clases de intrones del grupo II conocidas. Como primer paso se elaboró un algoritmo en el cual se incorporaron como filtros de exclusión un *e-value* mayor a -40 y un porcentaje de identidad superior a 35, de forma tal de garantizar la detección de todos los intrones presentes en las muestras. Este análisis resultó en la detección de 199 candidatos en los metagenomas de Antártida y 307 en los metagenomas del Mar Báltico. Análisis filogenéticos usando los métodos de *neighbor-joining* y máxima verosimilitud con el programa MEGA V6.0 mostraron que los intrones de la clase C fueron las ribozimas más abundantes tanto en sedimentos de Antártida (28%) como del Mar Báltico (35%). Por el contrario, se observó una escasa o nula presencia de intrones de las clases A, B, o MI en ambos nichos. Asimismo, este estudio permitió evidenciar que existen al menos 10 nuevas clases de intrones del grupo II, capaces de invadir nuevas regiones de un genoma.

Nuestros resultados comprueban que la clase C de intrones del grupo II es la ribozima más diseminadas en genomas de bacterias marinas. Además, se evidencia la posible diseminación de estos intrones de nichos marinos a ambientes hospitalarios, pudiendo colaborar en el incremento de la multirresistencia antibiótica.

GENÓMICA COMPARATIVA DE *Azospirillum* COMO HERRAMIENTA PARA IDENTIFICAR GENES CANDIDATOS PARA MLSA

Maroniche GA<sup>1,2</sup>, García JE<sup>3</sup>, Creus CM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP), <sup>3</sup>Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA), INTA-Castelar. Email: gmaroniche@gmail.com

El género *Azospirillum* comprende bacterias diazótroficas de vida libre que suelen encontrarse asociadas a las plantas, promoviendo su crecimiento. El estudio filogenético de *Azospirillum* presenta dificultades por a la presencia de genomas particionados que tienden a sufrir re-arreglos genéticos. Actualmente existen 16 especies descritas en el género, cuya interrelación filogenética a nivel molecular se basa principalmente en secuencias de ARNr 16S de las cepas tipo. Este gen presenta ciertas limitaciones: i) es inadecuado para discriminar grupos muy emparentados por su lenta evolución; ii) su variabilidad intergénica puede conducir a conclusiones inconsistentes. Como alternativa, el “Multilocus Sequence Analysis” (MLSA) es una herramienta más confiable que se basa en la comparación de genes “housekeeping” presentes en todas las bacterias. El objetivo de este trabajo fue realizar una prospección *in silico* de genes candidatos para estudios filogenéticos en el género *Azospirillum* por MLSA. Al analizar los genomas disponibles, se observó que existe una considerable variabilidad intergénica del ARNr 16S (en algunos casos se observan identidades nucleotídicas cercanas al 98%), lo que podría conducir a inexactitudes de filogenia o genotipado. A continuación, se calcularon diferentes índices de similitud genómica (ANiB, GGDC y AAIb) entre los genomas disponibles, que fueron luego usados como referencia para determinar el potencial discriminador de los genes *atpD*, *groEL*, *dnaK*, *glmS*, *glnA*, *gpsA*, *gyrB*, *nifH*, *panC*, *recA*, *rpoD* y *trpE*. Un análisis de correlación demostró que *rpoD*, *atpD* y *trpE* son los tres genes cuya divergencia refleja con mayor fidelidad las diferencias genómicas globales observadas entre las cepas analizadas según los índices ANiB y AAIb, mientras que *rpoD*, *groEL* y *glnA* son los más correlacionados al índice GGDC. Como consenso, el gen *rpoD* fue el que mayor correlación presentó con los tres índices. No se encontró ninguna asociación clara entre dichos coeficientes de correlación y los índices de polimorfismo, diversidad, % G+C o dN/dS de los genes. Por último, fue notable que los índices de comparación genómica entre *A. brasilense* Sp7<sup>T</sup>, Sp245 y Az39 presentan valores menores al límite propuesto como consenso para delimitar una especie. Esto sugiere que, o estas tres cepas representan miembros de diferentes especies, o que los valores límites propuestos (basados en otros géneros bacterianos) no son adecuados para *Azospirillum*. La segunda explicación se encuentra favorecida dado que la gran plasticidad genómica de los miembros de este género elevaría el nivel de variabilidad intraespecífica a umbrales más altos con respecto a otros géneros. Se concluye que el ARNr 16S no es aconsejable para análisis filogenéticos en *Azospirillum*, y que los genes *atpD*, *glnA*, *groEL*, *rpoD* y *trpE* son fuertes candidatos a ser utilizados en MLSA. Además, es necesaria una revisión de los valores umbral de similitud de ADN para delimitar especies de *Azospirillum*.



## METAGENÓMICA FUNCIONAL DE UN CONSORCIO BACTERIANO DEGRADADOR DE HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Festa S<sup>1</sup>, Madueño L<sup>1</sup>, Loviso CL<sup>3</sup>, Coppotelli BM<sup>1</sup>, Morelli IS<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina. <sup>2</sup> Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina. <sup>3</sup> Centro Nacional Patagónico (CENPAT-CONICET), Puerto Madryn, Chubut, Argentina. Email: [sabrinafesta@yahoo.com.ar](mailto:sabrinafesta@yahoo.com.ar)

La aplicación de estrategias metagenómicas al estudio de la funcionalidad de comunidades microbianas degradadoras de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) posibilita identificar microorganismos, genes o funciones claves para el proceso, además de contribuir a la comprensión de los mecanismos moleculares que controlan el mismo. En estudios previos se aisló un consorcio degradador de fenantreno (CON) a partir de un suelo crónicamente contaminado con hidrocarburos. Utilizando métodos cultivo dependientes se logró identificar en el consorcio la presencia de los géneros *Sphingobium*, *Enterobacter*, *Inquillinus* y *Pseudomonas*. Sólo se pudo evidenciar capacidad de degradar PAH en un cepa identificada como *Sphingobium* sp. La composición bacteriana del CON se estudió mediante pirosecuenciación de fragmentos del gen 16S rRNA. Las secuencias obtenidas se clasificaron dentro del filo Proteobacterias (89,4% Alpha, 2,9% Beta y 7,7% Gamma). La frecuencia relativa a nivel de orden reveló la presencia de Sphingomonadales (87,9%), Burkholderiales (2,9%), Rhodospirillales (1,2%), Pseudomonadales (0,4%), Enterobacteriales (6,7%), Rhizobiales (0,3%) y Xanthomonadales (0,6%). En el presente trabajo se llevó a cabo la construcción de una biblioteca metagenómica a partir del ADN de CON. Para ello se extrajo el ADN total, se seleccionaron fragmentos de aproximadamente 40 Kpb y se clonaron en el vector fosmídico pCC2FOS utilizando el Kit CopyControl HTP Fosmid Library Production. Posteriormente, se realizó una selección funcional sobre 8300 clones obtenidos. En total 18 clones presentaron la capacidad de clivar catecol y 2,3-dihidroxibifenilo, sustratos de enzimas extradiol dioxigenasas involucradas en las vías degradativas de PAH, por lo que sus fósmidos fueron purificados y luego secuenciados mediante la plataforma Illumina (INDEAR, Rosario, Argentina). A partir del ensamblado de las secuencias generadas se obtuvieron 2 *scaffolds* de alrededor de 60 Kpb (65287 y 57312 pb). El análisis de ambos fragmentos mediante el sistema integral de predicción génica y anotación automática RAST, permitió detectar genes relacionados con la degradación de PAH. Las proteínas codificadas por estos genes presentaron dominios pertenecientes a familias de extradiol dioxigenasas así como también mono y dioxigenasas, entre otros dominios vinculados con la degradación de PAH. La asignación taxonómica utilizando el programa Phylopythia S mostró que dichos *scaffolds* pertenecerían a Proteobacterias de clase Beta, uno de ellos con un 99% de identidad (74% de cobertura) respecto de una porción del genoma de *Burkholderia* sp. K24 (bacteria degradadora de anilina) mientras que el otro presentó un 99% de identidad (64% de cobertura) con la misma cepa bacteriana. A través de la estrategia metagenómica utilizada se pudo poner en evidencia la presencia en el consorcio de por lo menos otra especie con capacidad de degradar PAH, distinta de la cepa de *Sphingobium* spp., obtenida por métodos cultivables.

PREPARACIÓN DE MACROESFERAS DE QUITOSANO Y ALMIDÓN COMO INNOVACIÓN PARA LA BIOENCAPSULACIÓN DE *A. brasilense* AZ39 Y *P. fluorescens* ZME4

Pérez JJ<sup>1</sup>, Maroniche GA<sup>2</sup>, Pereyra MA<sup>2</sup>, François NJ<sup>1</sup> y Creus CM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Aplicaciones de Materiales Biocompatibles, ITPN (UBA – CONICET). Facultad de Ingeniería. UBA. Paseo Colón 850. C1063ACV, <sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica Vegetal y Microbiana, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Ruta 226. Km73. Balcarce. Email: jj.perez@conicet.gov.ar

En la última década los inoculantes en formulados líquidos han aumentado su calidad. Sin embargo, requieren del uso de protectores bacterianos y de una rápida germinación de las semillas ya que la viabilidad bacteriana en el suelo depende de factores ambientales. El uso de soportes poliméricos para la encapsulación de bacterias otorga la ventaja de protegerlas del estrés ambiental, asegurando su liberación gradual y prolongada. Los objetivos del presente trabajo fueron: a) producir una matriz polimérica (hidrogel) apta para ser usada como soporte bacteriano, b) caracterizarla mediante microscopía electrónica de barrido y c) estudiar la viabilidad bacteriana en las macroesferas secas almacenadas a temperatura ambiente por tres meses. Los hidrogeles se prepararon en base a quitosano y almidón de papa, mediante entrecruzamiento físico con tripolifosfato de sodio. Para la obtención de las macroesferas se utilizaron dispersiones poliméricas de quitosano de PM medio (3% m/m), ácido láctico 1% m/m (ambos a temperatura ambiente) y gel de almidón de papa (8% m/m) a 78 °C. Se obtuvieron goteando la dispersión de quitosano y gel de almidón sobre una solución acuosa de tripolifosfato de sodio a pH 8,6 durante 2 h. Se secaron a 40°C hasta alcanzar peso constante. Todos los reactivos fueron grado analítico de alta pureza. Se utilizaron *A. brasilense* Az39 (Az) y *P. fluorescens* ZME4 (Ps) crecidas en LB hasta fase estacionaria tardía como activos para encapsular. Se ajustaron las concentraciones a  $1 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Las bacterias se incorporaron en la matriz polimérica mediante el hinchamiento del xerogel en el medio de cultivo y secaron a 30°C hasta peso constante. Se evaluó la morfología del material preparado con y sin bacterias por microscopía electrónica de barrido, prefijándolo a 4°C en glutaraldehído (2,5% v/v), seguida de lavados con acetona creciente. La sobrevivencia bacteriana en el soporte se evaluó triturando las macroesferas en agua y conteo de UFC.g<sup>-1</sup> PS durante tres meses de almacenamiento a temperatura ambiente. El estudio morfológico reveló que las macroesferas poseen forma irregular con tamaño promedio entre 450 y 600 µm de diámetro, son porosas y su superficie rugosa, producto del método de obtención. Se observaron células aisladas y acúmulos de Az y Ps sobre la superficie del material y dentro de las mismas. Comparando las micrografías de los xerogeles cargados se observó que la cepa ZME4 resultó ser más grande que Az39. En relación a la sobrevivencia de las bacterias durante 3 meses de almacenamiento, se observó una disminución en un orden de magnitud en el número total de células viables durante los primeros 15 días. Luego el número total de células viables se mantuvo constante por 3 meses, siendo  $7 \times 10^7$  y  $8 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> para Az y Ps, respectivamente. En conclusión, el material obtenido y el método de encapsulación son efectivos para su uso como método de formulación de inoculantes manteniendo viables las bacterias durante tres meses en altos títulos.

ENDÓFITOS DE *Raphanus sativus*: UNA HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA PARA LA SÍNTESIS DE PRECURSORES SINTÉTICOS ENANTIOPUROS

Magallanes-Noguera C<sup>1</sup>, Rodríguez Bonnacarrere P<sup>2</sup>, Menendez P<sup>2</sup>, Gonzalez D<sup>3</sup>, Rodríguez Giordano S<sup>2</sup>, Orden A<sup>1</sup>, Kurina-Sanz M<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INTEQUI-CONICET, FQByF, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina. <sup>2</sup>DEPBIO y <sup>3</sup>DQO FQ, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay. Email: camagallanes@unsl.edu.ar

Uno de los grandes desafíos de la industria farmacéutica es la producción de moléculas ópticamente activas, para lo cual se requieren intermediarios de síntesis quirales con elevada pureza enantiomérica. Se ha demostrado que los enantiómeros de un compuesto pueden presentar diferencias notables en sus propiedades farmacocinéticas, biodisponibilidad e incluso en sus efectos farmacológicos. Una interesante herramienta biotecnológica que ha cobrado mucha atención en las últimas décadas es la Biocatálisis, que emplea microorganismos o sus enzimas aisladas. Entre sus innumerables ventajas se destaca su eco-compatibilidad y la capacidad de catalizar reacciones con elevado quimio, regio- y estereocontrol, operando en condiciones suaves de temperatura, pH y presión, evitando de esta manera problemas de isomerización, racemización, epimerización y rearrreglos no deseados, entre otros. Con el propósito de buscar nuevos biocatalizadores para su aplicación en la preparación de *sec*-alcoholes ópticamente puros, se llevó a cabo la búsqueda de microorganismos endofíticos (MEs) a partir de *R. sativus* (rabanito). Los MEs se seleccionaron según su capacidad para reducir estereoselectivamente carbonilos proquirales sobre los sustratos modelo acetofenona y -etilacetoacetato de etilo y se identificaron por técnicas moleculares. A partir de este trabajo se detectaron 3 nuevas cepas microbianas endofíticas con potencial aplicación biotecnológica: i) *Bacillus megaterium* CM15 con actividad reductora anti-Prelog hacia acetofenona, ii) *Penicillium chysogenum* vA8 con excelente estereoselectividad Prelog en la reducción del rac- -alquil- -cetoester modelo, iii) *Pseudomonas* sp. Eiiiix1aTSA que demostró ser enantioselectiva para reducir uno de los enantiómeros del -etilacetoacetato de etilo, y por lo tanto ser apropiada para llevar a cabo procesos quimioenzimáticos de resolución cinético dinámica.

## BACTERIAS PATAGÓNICAS PARA EL TRATAMIENTO ANTIENCOGIMIENTO DE LANA MERINO Y EL REEMPLAZO DE UN PROCESO INDUSTRIAL CONTAMINANTE

Iglesias M<sup>1</sup>, Sequeiros C<sup>1</sup>, García S<sup>2</sup>, Olivera N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Patagónico para el Estudio de Ecosistemas Continentales (CENPAT-CONICET), Puerto Madryn. Argentina, <sup>2</sup>INTI-Chubut. Trelew. Argentina. Email: [olivera@cenpat-conicet.gob.ar](mailto:olivera@cenpat-conicet.gob.ar)

En el marco de la política nacional para promover la transformación de conocimientos científicos en competencias tecnológicas se realizó un programa de selección de bacterias productoras de enzimas queratinolíticas extracelulares con potencial para el desarrollo de tratamientos antiencogimiento de lana Merino. Las escamas superficiales de la fibra de lana son las principales responsables de su encogimiento en los procesos de lavado. Las enzimas queratinolíticas son capaces de descamar la superficie de dicha fibra y así ser utilizadas en el desarrollo de tratamientos antiencogimiento no contaminantes. El actual tratamiento industrial utilizado para conferir resistencia al encogimiento a la fibra de lana es un método químico (cloración Hercosett) que produce compuestos orgánicos halogenados absorbibles e insume grandes cantidades de agua y energía. En estudios previos se aisló de lana Merino Patagónica la cepa *Bacillus* sp. G51 con importante actividad queratinolítica sobre lana. El objetivo del presente estudio fue caracterizar la actividad proteolítica extracelular de la cepa *Bacillus* sp. G51, considerando su potencial aplicación en el tratamiento antiencogimiento de lana. Se analizaron los sobrenadantes de cultivos en un medio con leche descremada como sustrato de crecimiento (1%) luego de 72 hs de incubación a 30°C y 200 rpm. La actividad proteolítica se determinó empleando caseína como sustrato (1 % p/v en la mezcla de reacción), utilizando buffer TRIS-HCl 0,1 M (pH 8) e incubando a 45°C. Se determinaron la temperatura y pH óptimos, y el efecto de inhibidores (1,10-Fenantrolina, EDTA, PMSF) y sales de calcio y zinc sobre la actividad proteolítica. El perfil proteico de los sobrenadantes, concentrados con 3 volúmenes de acetona, se analizó mediante SDS-PAGE y Zimograma, y Espectrometría de Masas de tipo Electrospray (ES/MS). El extracto enzimático crudo presentó máxima actividad a una temperatura de 60 °C y pH 9. La actividad del extracto crudo disminuyó un 65,3 % en presencia del inhibidor de proteasas serínicas PMSF (10 mM). A su vez, la actividad del extracto crudo fue inhibida 67,8 y 62,2 % por EDTA (10 mM) y 1,10-Fenantrolina (10 mM), respectivamente. Estos resultados sugirieron una mezcla de proteasas serínicas y metaloproteasas en el extracto crudo. Por otra parte, la incubación del extracto con iones Ca<sup>++</sup> incrementó levemente la actividad (4 %), mientras que con Zn<sup>++</sup> disminuyó 20 %. En el zimograma se detectaron tres bandas con actividad proteolítica. Mediante ES/MS se determinó que 5 péptidos resultantes de la digestión triptica de la banda con mayor actividad proteolítica coincidieron con la peptidasa M32 de *Bacillus mojavensis* (WP\_010334679.1); una metaloproteasa. La caracterización de la actividad proteolítica de G51 aportó información de base necesaria para el futuro diseño de un tratamiento antiencogimiento de lana Merino que deberá contemplar los parámetros óptimos de actividad obtenidos y la adición de iones Ca<sup>++</sup>.

## SUSCEPTIBILIDAD DE DISTINTAS ESPECIES DE INSECTOS PLAGA A LA PROTEÍNA CRY1IA DE *Bacillus thuringiensis* INTA H4-3

Pedarros A, Berretta M, Onco M, Pérez M, Sauka D, Benintende G

Insumos bacterianos. Instituto de Microbiología Agrícola (IMYZA). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires. Argentina. Email: pedarros.analia@inta.gob.ar

*Bacillus thuringiensis* es un bacilo gram positivo que produce durante la esporulación, una inclusión parasporal formada por proteínas denominadas Cry que pueden ser tóxicas para distintas especies de insectos. En particular, las proteínas de la clase CryII se caracterizan porque permanecen solubles y son secretadas al medio por la bacteria en la fase temprana de esporulación. Además se han descrito por presentar actividad tóxica dual para larvas de insectos coleópteros y lepidópteros. En este trabajo se evaluó la toxicidad de CryIIa expresada en forma heteróloga para distintas especies de insectos plaga. El gen *cryIIa* se amplificó a partir de la cepa nativa de *B. thuringiensis* INTA H4-3, con *primers* específicos y se clonó en el vector plasmídico pET30 (Novagen) que dirige la expresión inducible de la proteína en la cepa de *Escherichia coli* BL21(DE3). Se expresaron 3 variantes de CryIIa, dos de ellas correspondientes a la proteína completa fusionada a una secuencia de polihistidina en posiciones alternativas, y otra que constituye una versión truncada de la proteína, pero conteniendo el fragmento activo. Se evaluó la toxicidad de las mismas en dos especies de coleópteros, *Anthonomus grandis* y *Alphitobius diaperinus*, y en tres especies de lepidópteros, *Spodoptera frugiperda*, *Rachiplusia nu* y *Cydia pomonella*. Cada proteína se suministró a las larvas de primer estadio de los insectos evaluados, por incorporación en la dieta de cantidades definidas de células del cultivo inducido de *E. coli*. En todos los casos se usó una concentración de proteína equivalente a 175 µg/ml. Los ensayos se realizaron en 2 placas de 24 pocillos conteniendo la dieta formulada para cada especie a cada uno de los cuales se transfirió una larva; las placas se incubaron a 28 °C. La mortalidad se registró a los 7 días en el caso los coleópteros y a los 5 días para los lepidópteros. Los ensayos se realizaron por triplicado. Las variantes de CryIIa no presentaron toxicidad contra *A. grandis*, *A. diaperinus* y *S. frugiperda*. Para estas especies, la mortalidad no difirió de la de los controles tratados con células de *E. coli* transformadas con el vector vacío, con valores de hasta 10%. En el caso de *C. pomonella* se obtuvieron valores de mortalidad de 85% a 100%, dependiendo de la proteína utilizada, y para *R. nu* de 40% a 70%. En este último insecto también se observó un severo retraso en el desarrollo de las larvas sobrevivientes. La eliminación de una porción C-terminal de CryIIa, ausente en toxinas maduras relacionadas, no resultó en toxicidad contra los insectos no susceptibles. Por otra parte, las tres variantes de CryIIa expresadas manifestaron diferencias de toxicidad contra las especies susceptibles. La proteína de fusión con polihistidina en posición C-terminal resultó más tóxica. La proteína con dicha modificación, introducida para facilitar su purificación, será utilizada para cuantificar su efecto tóxico por determinación de CL<sub>50</sub>.

## BACTERIÓFAGOS COMO BACTERICIDA NATURAL

Ortiz, X<sup>1,2</sup>, Prosdocimo F<sup>1</sup>, Ojeda P<sup>1</sup>, De Franceschi M<sup>1</sup>, Barrios H<sup>1</sup><sup>1</sup> Universidad Nacional de Luján, <sup>2</sup> Comisión de Investigaciones Científicas.

Email: barrioshebe@gmail.com

En trabajos anteriores, se observó que algunos fagos no perdían su capacidad de lisar bacterias en medios hostiles (pH ácidos), ni en presencia de desinfectantes y de antibióticos empleados en avicultura. Ante el uso indiscriminado de sustancias químicas para la limpieza, sanitización y desinfección en las granjas avícolas que propician la selección de cepas resistentes a estos productos bactericidas, se estudió la utilización de un bacteriófago de *Salmonella gallinarum* (SG), para el control de esta serovariedad, sobre diferentes materiales que se emplean en los implementos y fabricación de jaulas, en las granjas de aves de postura comerciales.

Se usó cultivos de SG para contaminar experimentalmente y luego comprobar la actividad bactericida de un fago sobre materiales de polipropileno, PVC, cinc, polietileno de baja densidad y telas revestidas de PVC. Cada material se dividió en tres grupos, quedando un grupo control (que no fue contaminado con SG), otro grupo contaminado con SG y rociado con  $10^9$  unidades formadoras de placas /ml (UFP/ml) de fago y otro grupo contaminado con SG y rociado con solución fisiológica (SF). Luego de tres horas de incubación a 37°C, se tomaron muestras de todas las superficies con la ayuda de un hisopo embebido en SF, los que fueron colocados en frascos con agua peptonada (AP) durante 18 horas a 37°C. Una alícuota proveniente de cada frasco fue cultivada en caldo Rappaport- Vassiliadis a 42°C durante 24 horas y, posteriormente, en placas de XLD, se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonia /ml (UFC/ml) de SG de cada material. Así mismo, de los frascos de AP que contenían los hisopos del grupo de los materiales rociados con fago, se tomó un volumen de 0.1 ml de cada uno de ellos, y con el método de la Doble Capa se realizó un recuento de los fagos presentes.

Los resultados demostraron una marcada disminución de UFC/ml de SG en aquellas superficies que fueron tratadas con el fago (polipropileno de  $1,7 \times 10^6$  a  $5,4 \times 10^5$ ; PVC de  $2,5 \times 10^7$  a  $5 \times 10^5$ ; cinc de  $2 \times 10^5$  a  $2 \times 10^3$ ; polietileno de baja densidad de  $1,2 \times 10^7$  a  $8,5 \times 10^5$  y telas de  $1,4 \times 10^7$  a  $1,4 \times 10^6$ ). En estas mismas superficies se pudo recuperar fagos, observándose una mayor recuperación en superficies plásticas (con valores máximos cercanos a  $3 \times 10^3$  UFP/ml) y una menor recuperación en superficies metálicas (con valores máximos de  $5 \times 10^2$  UFP/ml).

Estos datos demostrarían que el uso de bacteriófagos podría ser una muy buena estrategia para utilizarlos como bactericida natural ofreciendo varias ventajas como bajo costo económico, mayor eficacia en la lisis de las poblaciones bacterianas, efectividad sobre las superficies en que se encuentran en contacto las aves, prolongada actividad residual y ausencia de toxicidad para los animales y el hombre. La inclusión de bacteriófagos como agentes bactericidas en los programas de higiene y desinfección contribuiría a disminuir el uso de otros agentes químicos y consecuentemente a preservar el medio ambiente.

## LEVADURAS NATIVAS KILLER; UNA BIO-ALTERNATIVA EFICAZ PARA EL CONTROL DE INFECCIONES POSTCOSECHA DE LIMONES

Pérez M F<sup>1</sup>, Contreras L<sup>1</sup>, Dib J R<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET).<sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. E-mail: [jdib@proimi.org.ar](mailto:jdib@proimi.org.ar)

Argentina es uno de los principales países productores de limón, generando aproximadamente el 15% de la producción mundial. A nivel nacional, Tucumán constituye la provincia con mayor superficie plantada de estos cítricos, aportando así el 73,27% del total producido. Durante el período postcosecha se generan numerosas infecciones en los frutos, especialmente aquellas producidas por los hongos fitopatógenos *Penicillium digitatum* y *P. italicum*, los cuales causan una podredumbre en el limón a partir de heridas generalmente producidas durante la cosecha. Los fungicidas de síntesis constituyen el producto más utilizado en el control de estas enfermedades debido a su gran efectividad y bajo costo. Sin embargo, la necesidad de disponer de métodos con menor impacto ambiental y riesgo mínimo para la salud humana, reclama el desarrollo de alternativas. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar levaduras nativas con fenotipo *killer* a partir de plantas cítricas de la provincia de Tucumán y del agua de lavado de cáscaras de una cítrica local, que presenten actividad antagonista frente a *P. digitatum* y *P. italicum* y determinar su eficacia en el control de las enfermedades postcosecha producidas por estos fitopatógenos, mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*. Se aislaron un total de 437 cepas de levaduras, de las cuales el 8,5% presentaron fenotipo *killer*. Posteriormente se evaluó la actividad antagonista *in vitro* de las cepas *killer* aisladas frente a los fitopatógenos y se seleccionaron e identificaron molecularmente las que presentaron los mejores resultados. A continuación, limones frescos y sanos sin ningún tratamiento postcosecha fueron heridos e inoculados artificialmente con esporos de los hongos fitopatógenos y estas cepas de levaduras, en un orden correspondiente según el tipo de control a ensayar. Luego de una incubación, con humedad y temperatura controladas, se determinó el número de limones enfermos y sanos. Las cepas de levaduras ensayadas controlaron el crecimiento de los patógenos mediante la protección de heridas, impidiendo así el avance de las infecciones. Dos de las tres cepas de levaduras probadas contra *P. digitatum*, ambas pertenecientes al género *Pichia*, presentaron una eficacia del 82.5%. Las 5 cepas de levaduras ensayadas contra *P. italicum* ofrecieron a su vez una protección total. Las levaduras nativas *killer* estudiadas en este trabajo resultan ser atractivas candidatas para desarrollar a futuro un producto de biocontrol efectivo, seguro y económico para combatir las infecciones fúngicas postcosecha de limones y una bio-alternativa eficaz al uso de fungicidas de origen sintético en la producción orgánica de cítricos.

EFFECTO DE LA INTERACCIÓN DE *Bacillus amyloliquefaciens* PGPBACCA1 CON  
*Fusarium solani* Y *Sclerotinia sclerotiorum* SOBRE LA SÍNTESIS DE LIPOPÉPTIDOS:  
ANÁLISIS POR UV MALDI TOF

Torres MJ<sup>1</sup>, Petroselli G<sup>2</sup>, Pérez Brandán C<sup>3</sup>, Erra-Balsells R<sup>2</sup>, Audisio MC<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI-CONICET), Universidad Nacional de Salta. Av. Bolivia 5150, 4400 Salta, Argentina. <sup>2</sup> CIHIDECAR-CONICET, Departamento de Química Orgánica, Universidad de Buenos Aires, Pabellón II, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup> Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-Estación Experimental Salta. Ruta Nacional 68 Km 172, 4403 Cerrillos, Salta. Argentina. Email: audisio@unsa.edu.ar

*Fusarium solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* son importantes fitopatógenos de la planta del poroto, un cultivo extensamente desarrollado en el Noroeste de Argentina (NOA). La utilización de antagonistas en el control biológico de estos hongos proporciona una alternativa al uso de pesticidas químicos. Diferentes cepas de la especie *Bacillus amyloliquefaciens* han sido estudiadas por su actividad antifúngica debido principalmente a la producción de lipopéptidos como surfactina, iturina y fengicina. Así mismo, se conoce que la expresión de los genes de síntesis de estos lipopéptidos estaría regulada durante las interacciones microorganismo-microorganismo en el medio ambiente. Teniendo en cuenta esta presunción, se piensa que el tipo de compuesto antifúngico sintetizado sería específico del género fúngico al cual se enfrenta la bacteria. El objetivo de este trabajo fue estudiar por espectrometría de masa UV MALDI TOF el efecto de la interacción de *B. amyloliquefaciens* PGPBacCA1 con dos fitopatógenos de diferentes géneros sobre la síntesis de lipopéptidos. La actividad antifúngica de PGPBacCA1 frente a *Fusarium solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* fue evaluada por la técnica de cultivo dual y medida como porcentaje de inhibición fúngica (%IF). La síntesis de los lipopéptidos por PGPBacCA1, frente a cada hongo, fue analizada por UV MALDI TOF en dos porciones de agar extraídas de la zona de inhibición: 1) zona adyacente a la colonia bacteriana (ZCB) y 2) zona adyacente al micelio fúngico (ZMF). Los resultados demostraron elevada capacidad inhibitoria de PGPBacCA1 frente a *F. solani* y *Scl. sclerotiorum*, midiéndose un 55,5% y 76,5% de IF, respectivamente. El análisis por UV MALDI TOF permitió detectar mayor síntesis de homólogos de surfactina, iturina y fengicina por PGPBacCA1, cuando esta se enfrentó a *Scl. sclerotiorum*. Así mismo en la ZCB se detectaron 5, 4 y 7 homólogos frente a *Scl. sclerotiorum*, mientras que frente a *F. solani* se identificaron solo 4, 3 y 4 homólogos de surfactina, iturina y fengicina, respectivamente. Cabe destacar que, al evaluar las ZMF se detectó con ambos hongos igual número de homólogos de cada lipopéptido previamente identificado en la ZCB, lo que indicaría que se produjo una completa difusión de dichos metabolitos por el agar. Cabe destacar que la presencia del fitopatógeno *Scl. sclerotiorum* generó una producción notable de homólogos de fengicina por PGPBacCA1, compuesto que estaría relacionado a la elevada actividad inhibitoria determinada. En conclusión, la técnica de espectrometría de masa permitió identificar a los lipopéptidos responsables de la actividad antifúngica de *B. amyloliquefaciens* PGPBacCA1 frente a dos importantes fitopatógenos del poroto. Así mismo, se demostró que el tipo de lipopéptido producido depende del género fúngico al cual se enfrenta la bacteria.



ECOLOGÍA DE ENDÓFITOS DE SEMILLA Y POTENCIAL COMO AGENTES DE  
BIOCONTROL DE *Fusarium graminearum*Díaz Herrera SM<sup>1</sup>, Grossi CEM<sup>2</sup>, Groppa MD<sup>1</sup>, Zawoznik MS<sup>1</sup><sup>1</sup>Química Biológica Vegetal, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires,<sup>2</sup>Tesinista Licenciatura en Genética, Universidad de Morón. Email: myritaz44@yahoo.com

Los endófitos de semilla pueden provenir de otros órganos vegetales o transmitirse verticalmente por gametas o meristemas; su importancia o papel aún no ha sido bien elucidado. Se ha demostrado que estos organismos pueden colonizar los tallos y las raíces de las plántulas emergentes, algunos de ellos podrían diseminarse por fuera de la raíz integrándose al ambiente rizosférico y ejercer antagonismo o competencia frente a otros microorganismos rizosféricos (incluyendo bacterias promotoras del crecimiento vegetal), y también algunos podrían tener acciones de biocontrol sobre patógenos. En este sentido se ha destacado su papel como productores de sustancias antibióticas, tanto difusibles como volátiles. Asimismo, la capacidad de formar biopelículas se considera un atributo valioso en términos de colonización y de resistencia a competidores. En un grupo de aislamientos obtenidos de semillas de trigo y previamente identificados y caracterizados se investigó la capacidad para formar biofilm en microplacas empleando la técnica de tinción con cristal violeta, el perfil de resistencia antimicrobiana ensayando concentraciones crecientes de ampicilina, kanamicina, cloranfenicol y tetraciclina en medio LB, y el potencial para el control de *Fusarium graminearum* (agente causal de la fusariosis de la espiga de trigo y activo productor de micotoxinas) mediante ensayos de cultivo dual, de sustancias difusibles y de sustancias volátiles, siguiendo la metodología descrita por Abdulkarem et al. (2014). Con uno de estos endófitos (que había demostrado valiosos atributos de PGPR *in vitro* y fue asignado al género *Pantoea*) se realizó un ensayo de inoculación, a fin de investigar su efecto promotor *in vivo* en trigo y cebada, también su perfil de colonización radical mediante un esquema de recuperación semidirigida. Tres aislamientos con rasgos fenotípicos diferenciales, pero asignados por secuenciación parcial del gen 16S a un mismo género (*Paenibacillus*), mostraron un considerable potencial de biocontrol de *F. graminearum*, que estaría mediado por sustancias difusibles. Dichos aislamientos fueron los que demostraron mayor capacidad de formar biopelículas y resultaron medianamente resistentes a ampicilina (hasta 50 ppm) y muy resistentes a kanamicina (hasta 100 ppm). Se encontró un efecto estimulador del crecimiento en cebada inoculada con la cepa asignada a *Pantoea*, tanto en condiciones normales (solo en raíz) como bajo estrés salino (en raíz y parte aérea), no así en trigo. Tras su inoculación, esta bacteria se recuperó en alto número y casi como componente exclusivo de la exorizosfera de plantas de cebada, formando también parte de la comunidad endorizosférica. Ningún aislamiento mostró antagonismo contra *Azospirillum brasilense* Az39, reconocida cepa PGPR actualmente en uso en formulaciones comerciales de inoculantes. Nuestros resultados dan cuenta de un importante potencial ecológico por parte de algunos componentes de la comunidad endófito presente en las semillas de cereales, aún poco caracterizada, y alienta a ahondar su estudio atendiendo a la posibilidad de desarrollar en el futuro inoculantes mixtos que podrían contribuir a mejorar los rendimientos de los cereales, en parte, reduciendo la incidencia de la fusariosis.

EVALUACIÓN DEL ROL DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO VI EN LOS PROCESOS DE MOVILIDAD Y FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE *Azospirillum brasilense* Az39Coniglio A, Rivera D, Molina R, Cassán F

Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. Argentina. Email: fcassan@exa.unrc.edu.ar

El sistema de secreción tipo VI es el último descrito en bacterias gramnegativas. Es un complejo proteico anclado entre ambas membranas y relacionado con un gran número de procesos biológicos ligados al estilo de vida bacteriano o a la interacción célula-célula. *Azospirillum brasilense* Az39 es una de las cepas más utilizadas en la formulación de inoculantes para no-leguminosas en Argentina desde hace más de 40 años. El análisis *in silico* de su genoma ha demostrado que contiene todos los genes necesarios para la síntesis y ensamblado del sistema secreción del tipo VI (SST6) aunque todavía se desconoce cuáles serían los procesos biológicos ligados al estilo de vida que dependerían del sistema de secreción esta bacteria. Con el fin de caracterizar y evaluar *in vitro* la funcionalidad del SST6 en *A. brasilense* Az39, se obtuvo por mutagénesis sitio-dirigida una cepa deficiente en la biosíntesis de la proteína del tubo denominada Hcp (*Az39* Hcp) y se evaluó su comportamiento en relación con la cepa salvaje sobre la movilidad, como "swimming" y "swarming" y a nivel de la capacidad de producir biopelículas. A nivel de la producción de biofilms se utilizó la técnica de cristal violeta. Para ello, cultivos puros de ambas cepas en fase exponencial fueron utilizadas para inocular al 1 % (v/v) tubos de hemólisis conteniendo 1300 µl de medio Luria Bertani (LB) que fueron incubados a 37 °C y sin agitación por 48, 72 y 96 horas. En cada punto de la curva se descartó el medio y se enjuagó por triplicado con solución fisiológica estéril. Luego, se agregaron 1300 µl cristal violeta al 0,1 % (p/v) y se incubó durante de 15 m a temperatura ambiente. Se removió el indicador y se lavó 3 veces. Finalmente se adicionaron 1300 µl de etanol al 95 % (v/v) y se midió por espectrofotometría a DO<sub>560</sub>. Para el análisis de movilidad, se utilizó un medio de cultivo conteniendo bacto-triptona y agar al 0,3 % (p/v) para el caso de "swimming" y al 0,7 % (p/v) para "swarming". En el centro de las placas se colocó de manera individual, 1 µl de cada cultivo bacteriano en fase exponencial y se incubó a 30 °C durante 72 h por triplicado. Transcurrido el tiempo se midieron los halos de difusión para cada cepa. Nuestros resultados indican que la producción de biopelículas en la mutante *Az39* Hcp fue significativamente menor que en caso de la cepa salvaje y así mismo para todos los puntos evaluados. Por otro lado, a nivel de la movilidad por "swimming" si bien ambas cepas lograron desplazarse en el medio de cultivo, la movilidad de la mutante fue mayor que en el caso de *Az39*. Finalmente, a nivel de la movilidad por swarming, no se observó desplazamiento en ninguno de los casos. Estos resultados sugieren que el SST6 de *A. brasilense* *Az39* estaría involucrado en la interacción célula-célula, modificando su capacidad de adhesión intercelular y afectando así los procesos de formación de bio-películas y movilidad dependientes de swarming.

INHIBICIÓN *IN VITRO* DE *Ascosphaera apis* CON ACEITES ESENCIALES DE GRAMÍNEAS NATIVAS E INTRODUCIDAS

Albo GN<sup>1</sup>, Altamirano PR<sup>2</sup>, Henning C<sup>3</sup>, Della Vedova R<sup>4</sup> y Córdoba SB<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Curso Producción Animal I. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. 60 y 119. La Plata (1900), Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Curso Cálculo Estadístico y Biometría. FCAyF. UNLP, <sup>3</sup>Curso Bioquímica y Fitoquímica. FCAyF, UNLP, <sup>4</sup>Cátedra Micología Médica e Industrial, FCV, UNLP, <sup>4,5</sup>Departamento Micología INEI ANLIS “Dr. C. Malbrán”. E-mail: albo.graciela@yahoo.com.ar

La ascosferosis es una enfermedad de la cría de la abeja melífera (*Apis mellifera*, L.) causada por el hongo *Ascosphaera apis*, que transforma las larvas en cuerpos yesosos, con disminución de la población de abejas adultas, reducción de la producción de miel y eficiencia en la polinización de cultivos. Los aceites esenciales (AE) extraídos de plantas aromáticas, son una alternativa a los productos de síntesis y, han demostrado ser eficaces en el control de las enfermedades de la abeja. El objetivo fue evaluar la actividad *in vitro* de los AE de 2 gramíneas de la familia Poaceae, 1 especie autóctona y otra introducida.

Los AE fueron extraídos del “espartillo” [*Elionorus muticus* (Spreng) O. Kuntze], flora autóctona, y del “lemongrass” [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] una especie introducida. La extracción de los AE fue por hidrodestilación Clevenger (Norma IRAM 18729) del material de oreado (humedad 10-15%) a partir de hojas de lemongrass de la zona de La Plata (Buenos Aires) y hojas de espartillo de la provincia de Santiago del Estero. Se estudió la efectividad de los AE sobre 48 aislados de *A. apis* procedentes de Argentina y Chile. Se determinó la concentración inhibitoria *in vitro* (CIM) de los AE (rango 50-1600 mg/l) y 2 repeticiones por tratamiento. El diluyente fue propilenglicol 2,5% v/v. Se usó ketoconazol (KE) 0,01 mg/l como control de alta efectividad y 2 controles de crecimiento, 1 sin esencia ni diluyente y otro con diluyente. Se utilizó el método de difusión en agar. El inóculo se realizó a partir de cultivos de *A. apis* durante 7-10 días a 35°C en medio MY20. Se realizaron orificios de 7 mm de diámetro en la superficie de agar de las placas con el hongo crecido. Las secciones del hongo fueron sembradas en placas que contenían medio MY20, AE más el diluyente. Las placas se incubaron a 35°C, 144 h en oscuridad. El crecimiento del hongo se midió con regla a 24, 48, 72 y 144 h. Los datos se analizaron con ANOVA y Tuckey (p < 0,05).

Se observaron diferencias significativas en los perfiles de sensibilidad de los aislados, los AE y las dosis (p < 0,0000) a 72 y 144 h. El análisis de Tuckey a 72 h, presentó mayor efectividad para lemongrass con respecto al espartillo y a KE, con un crecimiento medio de 3,33; 4,35 y 5,53 mm, respectivamente. En la lectura a las 144 h el lemongrass y el espartillo exhibieron la misma eficacia pero difirieron con KE, con crecimientos medios de 8,75; 8,79 y 11,41 mm, respectivamente. La CIM mostró una distribución unimodal, CIM<sub>50</sub>=200 mg/ml, CIM<sub>90</sub>=400 mg/ml y un rango de 100-400 mg/ml.

Se observó variabilidad intraespecie de la actividad de los AE evaluados. Frente al espartillo, el lemongrass fue más activo *in vitro* sobre *A. apis*. Sin embargo, el uso del espartillo (especie nativa), puede considerarse como un potencial producto natural para el control del hongo. No obstante, deben realizarse estudios complementarios sobre la toxicidad del AE en estadios larvales y adultos de la abeja.

POTENCIALES EFECTOS TÓXICOS DE ACEITES ESENCIALES DE GRAMÍNEAS Y DILUYENTES EFECTIVOS *IN VITRO* EN *Ascosphaera apis*, SOBRE ADULTOS Y LARVAS DE ABEJA MELIFERA (*Apis mellifera*, L.)

Albo GN<sup>1</sup>, Altamirano PR<sup>2</sup>, Juárez MA<sup>3</sup>, Grattoni<sup>1</sup>, Córdoba SB<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Producción Animal I, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Cálculo Estadístico y Biometría, FCAyF, UNLP, <sup>3</sup>Instituto de Recursos Biológicos, CIRN, INTA Castelar, <sup>4</sup>Departamento Micología INEI ANLIS “Dr. C. Malbrán”, <sup>5</sup>Cátedra de Micología Médica e Industrial, FCV, UNLP. E-mail: albo.graciela@yahoo.com.ar

*Ascosphaera apis* es un hongo micelial, causante de la infección de larvas de *Apis mellifera* L., conocida como “ascosferosis” y genera enormes pérdidas económicas. Los aceites esenciales (AE) extraídos de plantas aromáticas y solubilizados con los diluyentes apropiados son usados para controlar la enfermedad si las formulaciones no resultan tóxicas para la abeja. La infección afecta a larvas de 3 días por ingesta de la jalea real contaminada con esporas de *A. apis*. El AE debe estar activo en la jalea real. Para ello, las nodrizas reciben el AE con el alimento, y luego es segregado por las glándulas hipofaríngeas junto con la jalea real y así es suministrado a las larvas. El objetivo fue determinar la toxicidad de AE de gramíneas nativas e introducidas y distintos diluyentes, en adultos y larvas de abejas. Se estudiaron AE de espartillo (ES) [*Elionorus muticus* (Spreng) O. Kuntze] y lemongrass (LE) [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapp], de NOA y La Plata. Los AE, fueron obtenidos de las hojas por hidrodestilación, se formularon en sacarosa (SA) 50% y diluyentes, 2,5% propilenglicol (PG) y 2,5% alcohol (AL). Se determinó la Dosis Letal Media (DL<sub>50</sub>) en abeja adulta. Los controles fueron: ketoconazol (KE) (efectividad), dimetoato (DIM) (tóxico) y diluyentes. Las concentraciones se expresaron en microgramos de principio activo por abeja (µg p.a./ab). Se evaluaron el AE de ES y LE 2-64 (µg p.a./ab) en PG y en AL; DIM y KE 0,02-0,64 (µg p.a./ab); PG y AL. Se determinó la mortalidad de abejas adultas a 24, 48 y 72 h. El cálculo de la DL<sub>50</sub> se realizó con el análisis PROBIT Versión 1.5. Para evaluar la toxicidad larval en campo, se marcó un área de 180 celdas de cría (1°-5° estadio) el día 0 del ensayo. A los 7 y 21 días se contabilizó la mortalidad de larvas postratamiento, por conteo de celdas con huevos, larvas, pupas y vacías. Se evaluó el AE de ES y LE en AL a 1,5; 1/2 y 1/5 de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM); KE a 1 CIM y el control sin AE, en 3 ensayos y 3 repeticiones por tratamiento. Las dosis se ajustaron a la población de la colonia. La CIM<sub>50</sub>, determinada en estudios previos, fue para el AE de ES y LE: 200 mg/L y KE: 0,01 mg/L. Se empleó ANOVA y Tuckey (p < 0,05). La DL<sub>50</sub> de DIM fue 0,28-0,13 µg p.a./ab, considerada normal para productos “altamente tóxicos”. Los AE de ES y LE diluidos en AL a 24-72 h y en PG a 24 h resultaron “virtualmente no tóxicos”. Sin embargo, con PG a 48 y 72 h exhibieron “leve y moderada toxicidad”. El KE fue atóxico a 24 h pero a 48 y 72 h resultó “leve y moderadamente tóxico”. En larvas, se encontraron diferencias en los tratamientos y concentraciones (p < 0,000). Con el Test de Tuckey el AE de ES con 1,5 CIM presentó diferencias significativas (p < 0,0000) con el resto de los tratamientos y controles. No se observó toxicidad pupal. Mientras que en la abeja adulta, el AL y PG, resultaron los diluyentes inocuo y tóxico, respectivamente. Los AE de ES y LE diluidos con AL, serían efectivos y atóxicos para el control de *A. apis* en colmenas.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PRODUCTOS NATURALES OBTENIDOS DE *Thymus vulgaris* Y *Origanum vulgare* SOBRE *Pseudomonas syringae* AISLADAS DE TRIGO

Carezzano ME<sup>1</sup>, Paletti Rovey MF<sup>1</sup>, Sotello J<sup>1</sup>, Palazzini J<sup>1</sup>, Alberione E<sup>3</sup>, Marioli JM<sup>2</sup>, Demo MS<sup>1</sup>, Oliva MM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Microbiología e Inmunología, <sup>2</sup>Dpto. de Qca. Fac de Cs. Ex, Fco-Qcas y Nat. UNRC. Ruta 36 km 601, Rio Cuarto, Cba, Argentina <sup>3</sup>EEA INTA Marcos Juárez. Ruta Nacional 12. Marcos Juárez, Córdoba, Argentina. E-mail: [ecarezzano@exa.unrc.edu.ar](mailto:ecarezzano@exa.unrc.edu.ar)

Introducción: *Pseudomonas syringae* es una especie bacteriana capaz de producir enfermedades en trigo, siendo reportada su presencia en diferentes países, incluido la Argentina. La pudrición basal de la gluma en las espigas es ocasionada por *P. syringae* pv *atrofaciens*, el tizón foliar por *P. syringae* pv *syringae* y el nudo negro es causado por *P. syringae* pv *japónica*. Como estrategia para evitar la dispersión de enfermedades por fitopatógenos se está ensayando el uso de compuestos derivados de plantas medicinales. Estos productos se pueden dividir en varias categorías fitoquímicas: fenoles, quinonas, flavonas y flavonoides, taninos, cumarinas, aceites esenciales (AE), alcaloides, lectinas y polipéptidos. Varios estudios confirman la actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral de los productos mencionados. Objetivo: Aislar e identificar *Pseudomonas* fitopatógenas de trigo de la zona central del país y analizar la actividad antimicrobiana de productos naturales obtenidos de *T. vulgaris* y *O. vulgare* sobre las cepas aisladas. Materiales y métodos: A partir de hojas enfermas con síntomas de clorosis se realizaron los aislamientos microbianos en medios selectivos y diferenciales, efectuándose la caracterización bioquímica correspondiente. La actividad antimicrobiana (AA) de los productos naturales de tomillo y orégano fue evaluada por técnica de difusión en disco. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) por microtécnica y la concentración bactericida mínima (CBM) de los compuestos activos. Resultados y discusión: Se evaluaron 15 muestras de trigo proveniente de la zona rural de Marcos Juárez, con sintomatología característica de tizón foliar. Se seleccionaron 14 colonias a partir de Agar King B correspondientes a bacilos Gram negativo, Oxidasa negativo, con características fenotípicas descriptas para el género *Pseudomonas*. Estas cepas fueron identificadas por LOPAT como *P. syringae*. Todas fueron capaces de producir los síntomas característicos de tizón foliar en el test de patogenicidad, confirmando la capacidad de los aislados de reproducir la enfermedad. Las decocciones, extractos hexánicos, propanólicos y clorofórmicos de tomillo y orégano no presentaron AA sobre las cepas estudiadas. Los extractos alcohólicos (EA) de tomillo presentaron inhibición sobre 85,7% de las cepas (halos de inhibición: 0,8 cm a 1,25 cm) y el AE fue efectivo sobre 92,9% de las mismas (halos de inhibición: 0,8 cm a 1cm). Los EA de orégano presentaron AA sobre 35,7% y los AE sobre 85,7% de las cepas. Los valores de CIM del AE de tomillo se encontraron entre 2,87 mg/mL y 22,9 mg/mL; no presentaron efecto bactericida. Estos compuestos naturales, no generan resistencia bacteriana, no dejan residuos tóxicos en el ambiente y pueden obtenerse en grandes cantidades a un bajo costo, por lo que constituyen una alternativa promisoría para el control de enfermedades causadas por fitopatógenos bacterianos sobre diferentes cultivos de interés agroalimentario.

CARACTERIZACION DE FITOTOXINAS PRODUCIDAS POR CEPAS DE  
*Pseudomonas syringae* AISLADAS DE SOJA

Carezzano ME<sup>1</sup>, Oliva MM<sup>1</sup>, Reinoso E<sup>1</sup>, Primo E<sup>2</sup>, Giordano W<sup>2</sup>, Demo MS<sup>1</sup>, Marioli JM<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Microbiología e Inmunología, <sup>2</sup>Dpto. de Biología Molecular, <sup>3</sup>Dpto. de Qca. Fac de Cs.  
Ex, Fco-Qcas y Nat. Universidad Nacional de Rio Cuarto. Ruta 36 km 601, Río Cuarto, Cba,  
Argentina.

E-mail: [ecarezzano@exa.unrc.edu.ar](mailto:ecarezzano@exa.unrc.edu.ar)

*Pseudomonas syringae* es una especie fitopatógena que ocasiona daño en diferentes cultivos; se han aislado de soja los patovares *glycinea*, *tabaci* y *syringae* que producen manchas foliares y marchitamientos en la planta. Diversos factores de virulencia (toxinas) aumentan la severidad de la enfermedad y lesionan las células de la planta. Las fitotoxinas como la coronatina (cor), faseolotoxina y tabtoxina (tab) inducen clorosis y la siringomicina (sir) y siringopeptina, necrosis. La tab es producida por *P. syringae* pv *tabaci*, pv *coronafaciens*, pv *garcae*, pv *aureofaciens*, pv *phaseolicola* y pv *syringae*. Cor está descrita en patovares *atropurpurea*, *glycinea*, *macuolicola*, *morsprunorum* y *tomato* y sir en *pvsyringae*. El objetivo fue caracterizar fenotípica y genotípicamente fitotoxinas producidas por cepas de *P. syringae* aisladas de soja. A partir de plantas con síntomas de tizón fueron aisladas cepas de *P. syringae* (C13, EM1, LS3, Q, VT2) y se utilizaron cepas de referencia (*P. syringae* pv *tomato* DC 3000, pv *glycinea* B076, pv *glycinea* RACE 4, pv *syringae* P61 y *P. syringae* Ps5). Detección de toxinas. Tab: Sobre placas con agar MM se sembró un cultivo de *E. coli* y por técnica de pozo se evaluó la inhibición de la bacteria por la toxina de *P. syringae*. Se utilizó PCR con los primers *tblA1* y *tblA2*. Cor: Se detectó hipertrofia de tejidos inoculando discos de papa con sobrenadantes de *P. syringae*. La detección del gen *cfl* por PCR fue llevada a cabo utilizando el Primer 1 y el Primer 2. Sir: Se pulverizaron esporas de *Geotrichum citri aurantii* sobre gotas de cultivos de *P. syringae* en placas con medio SRM, incubándolas hasta observar halos de inhibición fúngica ocasionados por la toxina. La reacción de PCR fue llevada a cabo utilizando los pares de primers B (B1 y B2) y D (D1 y D2). Se observó la producción fenotípica de tab en todas las cepas de *P. syringae* aisladas de soja. Un fragmento de aproximadamente 829 pb, correspondiente al gen *tblA*, fue amplificado por la cepa de referencia *P. syringae* Ps5 (fenotípicamente positiva), mientras que no fue detectado en las demás cepas aisladas. Se observó la producción de cor en *P. syringae* LS3, Q y VT2. Por PCR se amplificó un fragmento de aproximadamente 650 pb en las cepas aisladas C13, LS3 y Q. Fenotípicamente se detectó la producción de sir en las *P. syringae* C13, EM1, LS3, Q y VT2. Por PCR no se observó la amplificación de fragmentos en estas cepas; en el control positivo, *P. syringae* pv *syringae* B728a se detectaron ambos productos de reacción (*syrB*:752bp y *syrD*:446bp). De acuerdo a los resultados fenotípicos observados, todas las cepas aisladas de soja produjeron tab y sir y tres produjeron cor, con detección genotípica en dos de ellas. Se observó que la producción fenotípica de las fitotoxinas no siempre se correlacionó con la detección genotípica. En conclusión, para la caracterización de cepas de la especie *P. syringae* y sus patovares, resulta de utilidad la combinación de ensayos fenotípicos y genotípicos.

*Trichoderma*: BANCO DE GERMOPLASMA DEL NOA, PRODUCCIÓN DE BIOMASA A BAJO COSTO Y APLICACIÓN EN CULTIVOS DE OLIVO CON “VERTICILOSIS”

Carrasco F<sup>1</sup>, Matías C<sup>1</sup>, Fracchia S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INTA - EEA Catamarca, <sup>2</sup>CRILAR-CONICET. Email: carrascofranca@inta.gov.ar

Los bioinoculantes son una valiosa herramienta que puede ser fundamentales para el manejo efectivo y sustentable de distintos cultivos. Si bien en el mercado existen formulaciones a base de microorganismos con capacidad de controlar distintos patógenos, están dirigidos en su mayoría a sistemas acotados como el peleteado de semillas o la producción de plántulas en invernadero, donde la cantidad de inóculo a utilizar es limitada. En cultivos más extensos ya implantados, con una problemática fitosanitaria abordable empíricamente mediante la aplicación de agentes de biocontrol suelen existir barreras logísticas y/o económicas que hacen inviable su aplicación. Un caso particular en este contexto es la infestación de *Verticillium dahliae* Kleb. en cultivares de olivo en las provincias de La Rioja y Catamarca, donde la enfermedad “Verticilosis del olivo” causada por este hongo está ocasionando graves pérdidas, al igual que en el resto de zonas olivícolas del país. Se sabe que cepas de hongos del género *Trichoderma* son efectivos antagonistas de diversos hongos patógenos, entre ellos *V. dahliae*. En este trabajo se plantearon como objetivos la confección de un banco de cepas de *Trichoderma* del NOA y protocolos para la producción masiva de cepas efectivas contra *V. dahliae* y la adaptación de la inoculación en fincas de olivo.

Se confeccionó un banco de *Trichoderma* (*TrichoNOA*) con más de 100 cepas aisladas de las provincias de Catamarca y La Rioja. Este banco se conserva por duplicado en las instalaciones del CRILAR e INTA EEA Catamarca. A partir de estas cepas se han seleccionado mediante enfrentamientos *in vitro*, aquellas con mayor acción antagonista por micoparasitismo sobre aislamientos de *V. dahliae*, logrados desde plantas infectadas en la zona mencionada. La producción de biomasa se ensayó en los sustratos: orujo de vid-orujo de olivo-residuo de jojoba, en cajas de Petri y se evaluó el crecimiento vegetativo y la esporulación. El orujo de vid a pH 5.5-6.0 resultó el más efectivo para el crecimiento de *Trichoderma*. Para la producción a escala se realizó el cultivo en este sustrato en bolsas plásticas de 1 metro de largo y 25 cm de diámetro. El sustrato, previamente esterilizado en autoclave, se inoculó con las cepas seleccionadas de *Trichoderma* y se incubó durante 5 días. Se evaluó el crecimiento, la producción de esporas y aparición de contaminantes durante la incubación. Este inóculo se aplicó en las acequias de riego, evaluando la dosificación con tomas de muestras de agua periódicas y midiendo las UFC (Unidades Formadoras de Colonia) en placas de Petri con medio APG. A posteriori se evaluó en muestras de suelo de la finca inoculada y por medio de diluciones en placa la misma variable. En ambos casos los valores de UFC fueron elevados, demostrando la efectiva colonización de la cepa inoculada. Se concluye que tanto el protocolo de producción de biomasa de bajo costo y la aplicación en riego por inundación (sistemas de producción tradicional) son viables para introducir agentes de biocontrol en fincas de olivo del NOA con la problemática de la Verticilosis del olivo.

EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO BIOCIDA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE  
HONGOS FITOPATÓGENOS AISLADOS Y CARACTERIZADOS  
DEL OITÍ (*Licania tomentosa*)

Cabrales IM<sup>1</sup>, Sierra J<sup>1</sup>, Acevedo CA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudiante Universidad de Santander, <sup>2</sup>Profesor Asociado Universidad de Santander.  
Email: ivettecabrales@gmail.com

La mayoría de las enfermedades causadas en plantas por microorganismos fitopatógenos a lo largo del tiempo, han sido controladas por sustancias químicas provocando el uso intensivo de agroquímicos. Sin embargo, se ha visto que el uso de estas sustancias presenta muchas desventajas entre las que se destacan la contaminación del suelo, agua y aire, además de problemas de salud en humanos, resistencia genética a los pesticidas, eliminación de enemigos naturales de plagas, entre otras. Atendiendo a ello, se pretenden estudiar alternativas de control de origen natural como lo son el uso de extractos vegetales, los cuales brindan ventajas al no afectar la salud humana, ser de fácil degradación y no contaminar. El objetivo del proyecto fue evaluar a nivel de laboratorio el efecto biocida de extractos vegetales de clavo (*Syzygium aromaticum*), semillas de guanábana (*Annona muricata*) y hojas de oití sanas (*Licania tomentosa*) sobre el crecimiento micelial de *Fusarium* sp, *Cladosporium* sp y *Mucor* sp, los cuales, en principio, se encuentran asociados al problema de enchurcamiento foliar del árbol de Oití y generan un acelerado proceso de senescencia. Para determinar la inhibición del crecimiento micelial, se utilizó la metodología de difusión en medio sólido e impregnación de discos de patógeno: se agregó 0.1 mL de los tratamientos extracto de clavo (TTO 1), extracto de guanábana (TTO2), extracto de oití sano (TTO3) y extracto combinado (TTO4), a concentraciones del 50 y 100% cada uno, sobre la superficie del medio PDA en placas; los hongos fitopatógenos conservados en PDA fueron perforados en forma de disco y colocados en el centro de la placa de medio más extracto. Se pudo establecer que los extractos vegetales al 50% de la concentración presentan un efecto de inhibición del desarrollo de *Fusarium* sp en porcentajes superiores al 30% a diferencia de los hongos *Cladosporium* sp y *Mucor* sp que mostraron ser tolerantes bajo todas las condiciones.

**Palabras clave:** *Fusarium* sp, *Cladosporium* sp, *Mucor* sp, *Licania tomentosa*, *Syzygium aromaticum*, *Annona muricata*



ANÁLISIS DE FORMULACIONES DE *TRICHODERMA HARZIANUM* TH2 DURANTE UN PERÍODO DE ALMACENAMIENTO DE SEIS MESES

Zapiola, J. M.<sup>1,3</sup>; Gonzales Anta, G.<sup>1,2</sup> Gasoni, L. A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Rizobacter Argentina S.A.; <sup>2</sup> Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA); <sup>3</sup> Insumos Fúngicos, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), INTA. Email jmzapiola@gmail.com

Actualmente existen numerosos productos que incluyen hongos biocontroladores del género *Trichoderma*. La eficiencia de dichos productos se ve afectada por la supervivencia del hongo durante el almacenamiento. Idealmente, un producto comercial desarrollado en base a organismos del género *Trichoderma* debe ser activo por al menos un período de 6 meses.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la supervivencia y la actividad biocontroladora *in vitro* de un formulado que incluye a *Trichoderma harzianum* Th2 (Th2), por un período de almacenamiento de 6 meses.

La cepa Th2 se desarrolló en erlenmeyers de 500 mL con 150 mL de medio de cultivo, en agitador rotatorio a 200 rpm. Luego de 4 días se formuló mezclando 150 mL del cultivo con una cantidad igual de solución de formulación. Los formulados se envasaron en vejigas plásticas y se almacenaron a  $20 \pm 3$  °C. A los 0, 2, 4 y 6 meses, se toman muestras del contenido de las vejigas y se determina: conidios totales, unidades formadoras de colonia (ufc), viabilidad y se realizan cultivos duales. Los conidios totales se determinan por recuento en cámara de Neubauer, las ufc por siembra de diluciones seriadas en placas de agar papa glucosado (APG) suplementado con rosa de bengala, la viabilidad y el largo de los tubos germinativos se determina mediante observación microscópica del crecimiento conidios sembrados en APG, agar agua (AA) o una mezcla de ambos. Los cultivos duales se llevaron a cabo utilizando los formulados almacenados y los fitopatógenos de trigo *B. sorokiniana*, *D. tritici repentis* y *F. graminearum*. Se realizó un experimento, con 3 vejigas por tratamiento y cada una se muestreó tres veces. Las diferencias en las medias se analizaron por ANOVA y se utilizó LSD de Fisher como test post-hoc.

Los cultivos líquidos de Th2 presentaron recuentos superiores a  $2 \cdot 10^8$  conidios/mL, lo que asegura un recuento del producto formulado superior a  $10^8$  al tiempo inicial de producción. El recuento de conidios se mantiene constante en el período 0 a 6 meses, mientras que hubo diferencias significativas en las ufc, aumentado a los dos meses y luego siendo constantes hasta los 6 meses, este aumento a los dos meses, puede estar asociado a la fragmentación de los pellets. El porcentaje de germinación de conidios en todos los casos fue superior al 70%, y siempre, la germinación en AA fue mayor que en PDA. Los tubos germinativos fueron mayores en AA indicando que la germinación puede progresar aun en ausencia de nutrientes. Todos los formulados fueron capaces de inhibir significativamente a todos los fitopatógenos.

Los conidios contenidos en los formulados almacenados hasta 6 meses fueron capaces de sobrevivir en las condiciones de almacenamiento con una viabilidad mayor al 70%, y mostraron además capacidad inhibitoria contra los fitopatógenos de trigo utilizados. Bajo las condiciones de ensayo, el método de producción y formulación de Th2 asegura una alta viabilidad y efectividad hasta los 6 meses de almacenamiento.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE FRACCIONES ACTIVAS DE EXTRACTOS DE  
*Minthostachys verticillata* (PEPERINA) FRENTE A *Paenibacillus larvae*

Ruffinatto L<sup>1</sup>, Beoletto V<sup>1</sup>, Marioli, J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología e Inmunología y <sup>2</sup>Departamento de Química, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nacional 36. Km 605. E-mail: jmarioli@exa.unrc.edu.ar

*Paenibacillus larvae* es una bacteria Gram (+), esporulada, agente causal de Loque Americana. Esta es una enfermedad de la larva de la abeja *Apis mellifera*, es muy nociva y altamente contagiosa, causante de grandes pérdidas económicas a los apicultores alrededor del mundo. Diferentes antibióticos han sido utilizados para controlar la Loque Americana, pero su uso tiene desventajas, como la aparición de cepas resistentes, y la presencia de residuos en los productos de la colmena. Por ello es necesario desarrollar nuevas estrategias para el tratamiento de colonias infectadas.

Algunos aceites esenciales y extractos derivados de plantas pueden inhibir el crecimiento de *P. larvae*. Estudios previos en nuestro laboratorio muestran que extractos de distintas especies vegetales tienen actividad antibacteriana frente a *P. larvae*. Una de las plantas con mayor actividad es *Minthostachys verticillata* ("peperina"), una especie nativa ampliamente usada en la medicina popular.

El objetivo de esta investigación es desarrollar tratamientos alternativos y no contaminantes para el control de Loque Americana, a partir de extractos de peperina.

Para ello utilizamos cepas de *P. larvae* aisladas de apiarios del Departamento Río Cuarto, en la provincia de Córdoba y otras aportadas por INTA Balcarce. *M. verticillata* fue recolectada en el Cerro Pan de Azúcar (31°14'17,72" S 64°25'12,29" O), ubicado Cosquín, provincia de Córdoba. A partir de las plantas secas se obtuvieron extracto hexano (EH), extracto benceno (EB) y extracto éter etílico (EE), por medio de una extracción líquido-líquido. La actividad antibacteriana de estos se analizó con la técnica de microdilución en caldo. El EH fue el más bioactivo con valores de CIM entre 0,032 y 0,125 mg/ml, y de CBM entre 0,125 y 0,5 mg/ml.

Por medio de TLC se separaron los componentes del EH, se pudieron observar un total de 11 bandas, 6 reveladas bajo luz UV y 5 reveladas con yodo. De estas últimas las bandas con Rf 0,83 y Rf 0,58 mostraron actividad antibacteriana frente a *P. larvae* en la prueba de bioautografía. Con el fin de analizarlas individualmente, las bandas 0,83 y 0,58, se separaron con cromatografía en columna tipo flash. Ambas bandas mostraron actividad antibacteriana contra *P. larvae*, pero esta fue mucho menor que la del EH. La banda 0,83 tuvo valores de CIM entre 4 y 8 veces mayores que el EH, y la banda 0,58 tuvo valores de CIM 32 veces mayores que el extracto completo. Esto sugiere la existencia de un efecto sinérgico entre los componentes del extracto.

Debido a la actividad antibacteriana del EH se decidió evaluar la toxicidad oral aguda de éste en las abejas adultas. EH no presentó LD<sub>50</sub>, lo que indica que no es tóxico para las abejas.

Estos resultados muestran que el EH podría utilizarse como antibacteriano contra *P. larvae*, con la ventaja de que la bacteria no presenta resistencia a éste y que no dejaría residuos peligroso en los productos de la colmena, preservando la inocuidad y calidad de éstos.

EVALUACIÓN DE AGENTES BIOCOMPATIBLES EN EL CONTROL DE CRECIMIENTO  
“*IN VITRO*” E “*IN VIVO*” DE *Botrytis cinerea*.

Rodríguez Navas A<sup>1</sup>, Rodríguez Romera M<sup>2</sup>, Quiroga MI<sup>2</sup>, Mercado ML<sup>2</sup>,  
González M<sup>2</sup>, Rivero M L<sup>2</sup>, Ponsone ML<sup>23</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biología (Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de San Juan). San Juan. Argentina. <sup>2</sup> Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Luján de Cuyo, Mendoza. Argentina. <sup>3</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.. E-mail: lorenaponsone@gmail.com, ponsone.lorena@inta.gob.ar

*Vitis vinifera* cv. Red Globe es una de las variedades de uva de mesa más cultivada y exportada de Argentina. Su calidad puede verse afectada por una amplia gama de factores físicos y biológicos que limitan el ingreso a los mercados de exportación. A nivel mundial, se considera que las mayores pérdidas en postcosecha se producen por enfermedades ocasionadas por patógenos fúngicos, como *Botrytis cinerea*, agente causal de la podredumbre gris. Las pérdidas por esta causa son en general de 5-25% del total de la producción, pudiendo alcanzar hasta el 50%. El tratamiento comercial usado para la conservación de uva de mesa es la aplicación de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), pero su uso está cada vez más cuestionado porque sus residuos pueden causar reacciones alérgicas en los consumidores. En este trabajo se evaluó el efecto de una cepa de *Metchnikowia pulcherrima* RCM2 (10<sup>4</sup> y 10<sup>6</sup> cel mL<sup>-1</sup>), quitosano (provisto por INTI- Mar del Plata) (0,5, 1 y 2 % v v<sup>-1</sup>) y zeolita (1% p v<sup>-1</sup>) como agentes de control de podredumbre gris tanto *in vitro* como *in vivo* en tratamientos a escala semi comercial de conservación en frío de uva mesa. Todos los agente biocompatibles fueron evaluados de manera individual en Agar Papa Glucosado (APG) e incubados durante 7-10 días a 25°C. Tanto el tratamiento con RCM2 como el de quitosano afectaron de manera significativa el crecimiento de *B.cinerea* B-24 (p<0.05). Posteriormente, se realizó un ensayo *in vivo*, en el cual se trabajó con racimos de uva cv. Red Globe sanos y homogéneos provenientes de Junín (provincia de Mendoza). Se preparó una solución al 1% de quitosano, y un inóculo de *B.cinerea*B-24(10<sup>4</sup>celmL<sup>-1</sup>) con la cual se inoculó a la mitad de los racimos, previo a la aplicación de los tratamientos. Se empleó un diseño en bloques, con dos condiciones: racimos no inoculados y racimos inoculados artificialmente con *B. cinerea* B-24, con 3 tratamientos y 6 repeticiones cada uno. Los tratamientos fueron: racimos sin productos (control); racimos con generador de SO<sub>2</sub>; racimos con quitosano, racimos inoculados con RCM2, racimos colocados sobre una cama de 250 gr de zeolita en la caja de embalaje. Todos los tratamientos se conservaron en cámara frigorífica a 0 °C y 90 a 95% de HR. Las evaluaciones se realizaron a los 0, 30, 60, 90 días. Tanto en racimos no inoculados como inoculados, el desarrollo de hongos filamentosos (*B.cinerea*, *Penicillium* sp., *Alternaria* sp.) fue menor en los tratamientos con zeolita y los tratamientos con SO<sub>2</sub>, sin diferencias significativas entre ellos. Mientras que el quitosano mostró una eficacia significativamente mayor (p 0.05) que el SO<sub>2</sub> para controlar la podredumbre total. Por lo tanto, tanto la zeolita como el quitosano prometen ser una alternativa eficaz para reemplazar los generadores de SO<sub>2</sub> en la conservación de uva de mesa.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PRODUCTOS NATURALES OBTENIDOS DE *Thymus vulgaris* Y *Origanum vulgare* SOBRE *Paenibacillus larvae*, AGENTE CAUSAL DE LOQUE AMERICANA

Oliva MM<sup>1</sup>, Carezzano ME<sup>1</sup>, Paletti Rovey MF<sup>1</sup>, Sotello J<sup>1</sup>, Beoletto V<sup>1</sup>, Marengo L<sup>1</sup>, Demo MS<sup>1</sup>, Marioli, JM<sup>21</sup>

Dpto. de Microbiología e Inmunología, <sup>2</sup>Dpto. de Qca. Fac de Cs. Ex, Fco-Qcas y Nat. UNRC. Ruta 36 km 601, Río Cuarto, Cba, Argentina. E-mail: [ecarezzano@exa.unrc.edu.ar](mailto:ecarezzano@exa.unrc.edu.ar)

Introducción: La “Loque americana” es una de las enfermedades más importantes de la abeja (*Apis mellifera*) producida por *Paenibacillus larvae*, bacilo gram positivo esporulado que infecta los estadios de larva y pupa de la abeja causando su muerte. Posee alto grado de patogenicidad y virulencia sobre las larvas siendo la espora la estructura responsable. La manipulación inadecuada de colmenas contaminadas contribuye a la dispersión de la enfermedad. El control de esta se realiza mediante el empleo de antibióticos que generan resistencia y dejan residuos en la miel. Se está probando la aplicación de compuestos derivados de vegetales para combatir a esta bacteria. *Thymus vulgaris* y *Origanum vulgare* son plantas aromáticas que poseen actividad antimicrobiana (AA) contra bacterias Gram positivo y Gram negativo por lo que podrían considerarse como potenciales compuestos factibles de aplicar sobre este microorganismo. Objetivo: Evaluar la actividad antimicrobiana de productos naturales obtenidos de *T. vulgaris* y *O. vulgare* sobre cepas de *P. larvae*. Materiales y Métodos: Se utilizaron las siguientes fracciones vegetales: decocciones (D), extractos alcohólicos (EA), hexánicos (EH), propanólicos (EP), clorofórmicos (EC) y aceites esenciales (AE) de tomillo y orégano sobre *P. larvae*. Las decocciones fueron obtenidas por ebullición del material vegetal, los extractos por extracción sucesiva con hexano, cloroformo y propanol utilizando un equipo Soxhlet, los AE fueron obtenidos por hidrodestilación. La AA fue evaluada por técnica de difusión en disco. Se trabajó con 7 cepas de *P. larvae* aisladas de cuadros de colmenas con síntomas de Loque Americana identificadas con pruebas bioquímicas y tipificadas por ARNr 16S. Resultados y discusión: Las fracciones EA, EH, EP y AE de tomillo fueron activas sobre el 100% de las cepas ensayadas con halos de inhibición promedio de 1cm a 1,45cm. La D y el EC no presentaron actividad sobre estos microorganismos. Las fracciones de D, EA, EH, EP y AE de orégano utilizadas presentaron actividad sobre el 85,7% de las cepas de *P. larvae*, mientras que el EC fue capaz de inhibir al 71,4% de las mismas. Los halos de inhibición promedio de estos extractos se encontraron entre 1,13cm y 1,36 cm. Los productos obtenidos de ambos vegetales ejercieron actividad antimicrobiana efectiva sobre los bacilos productores de Loque, estableciendo una potencial fuente de moléculas activas contra patógenos animales. Los extractos de *Thymus vulgaris* y *Origanum vulgare* podrían ser considerados en la formulación de nuevos antimicrobianos como alternativa natural para el control de *P. larvae*.

EFECTO DE ACEITES ESENCIALES DE *Thymu svulgaris* Y *Origanum vulgare* SOBRE SEMILLAS DE *Glycine max*

Oliva, MM<sup>1</sup>; Sotello, J<sup>1</sup>; Carezzano, ME<sup>1</sup>; Paletti Rovey, MF<sup>1</sup>; Giordano, W<sup>2</sup>; Demo, MS<sup>1</sup>; Marioli JM<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Microbiología e Inmunología, <sup>2</sup>Dpto. de Biología Molecular, <sup>3</sup>Dpto. de Qca. Facultad de Cs. Ex, Fco-Qcas y Nat. Universidad Nacional de Rio Cuarto. Ruta 36 km 601, Rio Cuarto, Cba, Argentina. E-mail: moliva@exa.unrc.edu.ar

**INTRODUCCION:** *Pseudomonas syringae pv glycinea*, causante del tizón bacteriano en soja, sobrevive en hojas, residuos y semillas, observándose en estas últimas un crecimiento bacteriano viscoso. El control de este fitopatógeno se realiza utilizando pesticidas de alta toxicidad para los consumidores y el ambiente generando rápida resistencia bacteriana. Se sugiere la rotación de cultivos y el uso de semillas certificadas para evitar la propagación de esta enfermedad. Como alternativa, se está probando la aplicación de aceites esenciales (AE) con actividad antimicrobiana (AA) sobre plantas y semillas infectadas. Estudios previos confirman la AA del AE de tomillo y de orégano sobre cepas de *P. syringae* aisladas de soja, obteniendo resultados promisorios. Por lo tanto, estos AE podrían considerarse como potenciales antibacterianos factibles de aplicar sobre semillas. Para ello es necesario evaluar si estos productos naturales afectan los parámetros de crecimiento de la semilla de soja. **OBJETIVO:** Analizar la inocuidad de los AE de *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Origanum vulgare* (orégano) sobre semillas de *Glycine max*. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se colocaron semillas de soja en contacto con diferentes concentraciones de AE de tomillo y de orégano diluidos en dimetilsulfóxido (DMSO) y se evaluaron los siguientes parámetros: % de germinación, longitud de radícula, % de emergencia de plántulas en agua y en tierra, y contenido de clorofila. Previamente se evaluaron los mismos parámetros para el diluyente DMSO. **RESULTADOS Y DISCUSION:** El rango de concentraciones utilizado para el AE de tomillo fue de 0,11 a 1,79 mg/ml. Los parámetros evaluados no fueron afectados a partir de las siguientes concentraciones: germinación 0,89 mg/ml; longitud de la radícula 1,79 mg/ml; emergencia de plántula en agua y en tierra 1,79 y 0,89 mg/ml, respectivamente. Por lo tanto, la concentración inocua mínima de este AE fue de 0,89 mg/ml. El rango de concentración evaluado del AE de orégano fue de 0,11 a 57,82mg/ml. Los parámetros estudiados no fueron afectados a partir de las siguientes concentraciones: germinación 7,22 mg/ml; longitud de la radícula 0,45 mg/ml; emergencia de plántula en agua y en tierra 7,22 y 0,90 mg/ml, respectivamente. La concentración inocua mínima de este AE fue de 0,45 mg/ml. El contenido de clorofila en la plántula no fue afectado por ninguno de los AE ensayados. Las concentraciones inocuas de ambos AE presentaron valores cercanos a las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM), las cuales fueron determinadas en estudios previos (CIM de tomillo: 1,43mg/ml; CIM de orégano: 1,44 mg/ml). Estos resultados demuestran que el AE de tomillo y de orégano podrían ser utilizados para la formulación de nuevos compuestos antimicrobianos de origen natural que aplicados sobre semillas infectadas evitarían la dispersión de la enfermedad y la eliminación al medio ambiente de productos contaminantes no deseados.

ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE RIZOBACTERIAS FRENTE A LOS HONGOS  
PATÓGENOS DE SUELO *Verticillium dahliae* Y *Fusarium* sp.

Sayago P<sup>1-2</sup>, Albarracín Orio AG<sup>2</sup>, Brücher E<sup>2</sup>, Palacios S<sup>2</sup>, Ducasse DA<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup> Becaria doctoral de CONICET. <sup>2</sup> Área de Cs. Agrarias, Ingeniería, Cs. Biológicas y de la Salud de la Universidad Católica de Córdoba Unidad Asociada a CONICET. <sup>3</sup> Instituto de Patología Vegetal IPAVE-INTA, Córdoba. Email: pamesayago@gmail.com

En la Argentina durante la última década, el cultivo del olivo ha experimentado una gran expansión, sin embargo se ve afectado por patógenos de suelo. La “marchitez” o “parálisis parcial”, es una enfermedad limitante del cultivo, cuyo agente causal es el hongo de suelo *Verticillium dahliae* Kleb. Otro patógeno importante de suelo que causa graves problemas en viveros es *Fusarium* sp., que durante la etapa de enraizamiento del olivo, ocasiona la muerte de las plántulas por pudrición radicular. Una estrategia de control de fitopatógenos es el control biológico, que está ocupando un lugar importante en el manejo de enfermedades de las plantas. En este enfoque prometedor, las bacterias PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) poseen buenas posibilidades, debido a los diferentes mecanismos de acción de su actividad antagonista frente a hongos patógenos, pero también por su capacidad de estimular el crecimiento de las plantas. Factores que contribuyen a la salud de las plantas, modificando de manera favorable su crecimiento y desarrollo. Es por esta razón que decidimos abordar el control biológico como una estrategia sustentable para el manejo de las enfermedades causadas los hongos patógenos *Verticillium dahliae* y *Fusarium* sp.

Para el aislamiento e identificación de PGPRs con actividad antagonista, se tomaron muestras de suelo de olivares de La Rioja, Argentina. La cepa *V. dahliae* fue aislada de la misma región y se caracterizó como patotipo no-defoliante, el más frecuente en nuestro país. Mientras que la cepa de *Fusarium* sp. fué aislada de estacas de olivo, provenientes de la provincia de Catamarca. La actividad antagónica de las cepas bacterianas contra *V. dahliae* y *Fusarium* sp. se evaluó en ensayos de co-cultivo. Para ello, se tomaron discos de medio con micelio de 10 mm de diámetro, obtenidos de un cultivo de 14 días y se colocaron en el centro de una placa de Petri conteniendo medio Agar Papa Glucosado (APG). Cultivos de cada bacteria a evaluar se sembraron en estrías a cada lado del disco fúngico. Las placas se incubaron a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  por 10-15 días. Como control, se utilizó placas que sólo contenían el disco micelial. Luego de la incubación, se midió el crecimiento radial del patógeno en las placas duales. El porcentaje de inhibición con respecto al control se calculó de acuerdo a la fórmula:  $I = (C - T / C) \times 100$ , donde: I = % de inhibición, C = crecimiento del micelio en el control, T = crecimiento del micelio en el tratamiento.

Se detectaron cepas con porcentajes de inhibición del crecimiento de *V. dahliae* que oscilaron entre el 85 y el 66.4%. Mientras que la inhibición de crecimiento de *Fusarium* sp. se cuantificó entre 47.2 a 78.5%. Se seleccionaron y se identificaron las cepas como *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus vallismortis* y *Paenibacillus jamilae* con actividad antagonista contra *V. dahliae* y *Fusarium* sp.

BIOCONTROL DE *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria* A TRAVÉS DE BACTERIOCINAS PRODUCIDAS POR PSEUDOMONAS

Príncipe A<sup>1</sup>, Torasso M<sup>1</sup>, Godino A<sup>1</sup>, Fernández M<sup>1</sup>, Fischer S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Río Cuarto. Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas. Email:principeanalia@gmail.com

La mancha bacteriana, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria*, es una de las enfermedades más importantes del cultivo de tomate, la cual provoca significativas reducciones del rendimiento y de la calidad de los frutos. El objetivo principal de este trabajo fue determinar la capacidad antagónica de una bacteriocina tipo fago (piocina R) producida por *Pseudomonas fluorescens* SF4c contra *X. axonopodis* pv *vesicatoria* (Xcv Bv5-4a). Una ventaja que presentan las bacteriocinas es que no tienen efectos tóxicos en animales y humanos a diferencia de los bactericidas comerciales formulados principalmente a base de cobre; los cuales generan frecuentemente la aparición de cepas tolerantes además de producir un impacto negativo sobre el medio ambiente y la salud humana.

Para evaluar el antagonismo *in vitro*, se llevó a cabo un ensayo de inhibición de Xcv Bv5-4a en placa empleando diferentes concentraciones de bacteriocina. La susceptibilidad del biofilm formado por Xcv Bv5-4a, a la piocina fue analizada en medio mínimo XVM<sub>2</sub> empleando cristal violeta para la cuantificación. Ensayos de biocontrol *in vivo*: La supervivencia de Xcv Bv5-4a fue determinada en hojas de tomate pulverizadas con diferentes concentraciones de bacteriocinas: 700 y 1500 UA/ml. La infección fue realizada empleando una suspensión de Xcv Bv5-4a conteniendo aproximadamente 10<sup>6</sup> UFC/ml. El número de células viables/cm<sup>2</sup> fue determinado a los 7 días post-infección. Los resultados fueron comparados a los controles empleados. Los ensayos fueron repetidos tres veces y analizados estadísticamente empleando el análisis de varianza de una vía (ANOVA) (p<0,05).

En condiciones *in vitro*, las células de Xcv Bv5-4a fueron susceptibles a concentraciones de 500 UA/ml de bacteriocina. Además esta piocina fue activa sobre el biofilm formado por Xcv Bv5-4a observando una disrupción significativa del mismo (~60%) (p<0,05).

A partir de los ensayos *in vivo* se observó una reducción significativa de los síntomas de la mancha bacteriana en las hojas de plantas de tomate tratadas con la bacteriocina (1500 UA/ml). Estos resultados coincidieron con una disminución en el número de células viables de Xcv Bv5-4a (~10<sup>5</sup> UFC/ml) comparado con las plantas infectadas empleadas como control (~10<sup>7</sup> UFC/ml) (p 0,05). Las hojas de estas plantas presentaron además, el desarrollo de lesiones típicas de la mancha bacteriana. El tratamiento más efectivo se obtuvo a partir de dos aplicaciones foliares de bacteriocinas post-infección (48 y 96 hs).

Nuestros resultados indican que el empleo de las bacteriocinas tipo fago, como estrategia alternativa para el control del fitopatógeno *X. axonopodis* pv *vesicatoria*, podría reducir los síntomas de la mancha bacteriana en plantas de tomate. La información derivada de estos estudios nos permitirá desarrollar un producto efectivo para controlar algunas de las enfermedades que afectan su cultivo, contribuyendo así a la inocuidad de los productos derivados del mismo.

CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE BIOCONTROL Y DE PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR) DE CEPAS DE *Bacillus* spp AISLADAS DE RIZOSFERA DE TOMATE CULTIVADO EN SUELOS DESINFECTADOS CON METAM SODIO Y METAM POTASIO

Rodríguez Cáceres EA<sup>1</sup>, Sauka D<sup>2</sup>, Vita FA<sup>3</sup>, Carletti SM<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Asesor de Agroindustrias; <sup>2</sup>IMyZA, INTA Castelar; <sup>3</sup>Depto. Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. Email: fedevita1@yahoo.com.ar

La contaminación ambiental por el uso excesivo de fungicidas en el control de enfermedades, y la aparición de patógenos resistentes a principios activos de uso frecuente ha impulsado la investigación de alternativas de bajo impacto ambiental. Las bacterias biocontroladoras y promotoras del crecimiento vegetal, resultan promisorias para su uso como inoculante. Entre las PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) más estudiadas se encuentra el género *Bacillus*. La práctica de la desinfección de suelos en cultivos intensivos bajo cubierta, altera la composición de la microflora existente. Se inicia, entonces, una competencia entre poblaciones microbianas que intentan colonizar el suelo desinfectado. Se tomaron muestras de raíces en un cultivo de tomate con distintos tratamientos de desinfección de suelo. Las raíces se sometieron a “shock térmico”, 5 min a 100°C. Alícuotas del sobrenadante se sembraron en placas con agar nutritivo. Se aislaron colonias presuntivas de *Bacillus* sp y se confirmaron mediante coloración de Gram y de esporas, en tanto que la identificación bioquímica se realizó según el manual Bergey's. De 45 aislamientos, sólo 3 mostraron efectivo control de hongos fitopatógenos y actividad PGPR. El biocontrol de fitopatógenos se realizó mediante pruebas de confrontación con diferentes cepas fúngicas en laboratorio. La cepa P6C1 causó inhibición del desarrollo de los hongos ensayados “*in vitro*” (*Rhizoctonia solani* y varias especies de *Fusarium* sp). Los 3 aislamientos se identificaron como *Bacillus amyloliquefaciens* a partir del análisis de las secuencias de un fragmento del gen 16S rRNA y de la utilización del sistema API 50 CH (BioMerieux). Además, se tuvo en cuenta la capacidad de los mismos para crecer en agar nutritivo conteniendo 4% o 10% de NaCl. Posteriormente, se analizaron estos aislamientos mediante Rep-PCR y se establecieron relaciones de parentesco a través de los perfiles electroforéticos generados. Éstos resultaron idénticos entre sí, pero distintos al de otras cepas empleadas como referencia, incluso de la misma especie. Esto sugiere una variabilidad genética alta entre ellos. Para determinar la capacidad PGPR se efectuaron distintas pruebas de laboratorio como: producción de AIA, producción de sideróforos, solubilización de fósforo, producción de ácido cianhídrico y pruebas “*in vivo*” en plantines de maíz, soja y tomate. En las variables estudiadas, en vástago de maíz, se observaron diferencias en el peso fresco y seco de las plantas. Los aumentos (21% y 18% respectivamente) fueron significativos con la inoculación de las cepas seleccionadas. La altura y el diámetro del tallo no fueron afectados por la inoculación. Los parámetros de la raíz, si bien se afectaron por la inoculación con *Bacillus*, las diferencias no fueron significativas. En plantas de soja, se observaron incrementos en el peso fresco y seco con promedios entre 21-29%, debido a la coinoculación de *Bradyrhizobium japonicum* y *Bacillus*. El peso seco de los nódulos también se afectó por la coinoculación con *Bacillus* cepa P8C1 (32 %). Para la mayoría de las variables evaluadas, en plantines de tomate, no se observó diferencia estadística significativa entre tratamientos. Sin embargo, las plantas inoculadas con la cepa P8C1 lograron mayor altura comparadas con el resto (p=0,0346). Éstos resultados podrán servir como base para otros estudios hasta la etapa de cosecha.



EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL POTENCIAL ANTAGÓNICO DE AISLAMIENTOS NATIVOS DE *Cladorrhinum* FRENTE A FITOPATÓGENOS

Martín M<sup>1</sup>, Rojo R<sup>1</sup>, Barrera V<sup>1</sup>, Gasoni L<sup>1</sup>, Saparrat M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Insumos Fúngicos, IMyZA-INTA, Las Cabañas y De los Reseros s/n, CC 25 (1712) Castelar;

<sup>2</sup>INFIVE, (CONICET-UNLP) CCT-La Plata, Diag. 113 y 61, Inst. de Botánica Spegazzini, Facultad de Cs. Naturales y Museo, 53 # 477, 1900, La Plata, Argentina. Email: martin.mara@inta.gob.ar

El uso de agentes biológicos es una alternativa prometedora para controlar patógenos y plagas de cultivos agrícolas en respuesta a reducir los costos de producción y disminuir la contaminación del ambiente y el consecuente uso de agroquímicos. Hongos de suelo pertenecientes a especies del género-complejo *Cladorrhinum* (anamorfos de Lasiosphaeriaceae, Sordariales, Sordariomycetes, Ascomycota) son atractivos como agentes biocontroladores debido a su capacidad para producir diferentes metabolitos y enzimas involucrados en el control de fitopatógenos. El objetivo de esta presentación es dar a conocer los resultados obtenidos en relación al estudio de la actividad antagónica de aislamientos nativos del complejo fúngico *Cladorrhinum* sobre los fitopatógenos *Bipolaris sorokiniana* (*Bs*) y *Fusarium graminearum* (*Fg*). Los aislamientos estudiados están depositados en la colección de cultivos fúngicos del IMyZA-INTA, que incluyen a hongos aislados a partir de suelos de distintas regiones del país y cepas de referencia de *C. foecundissimum* (341.92), *C. samala* (59, 168 y 56), *C. bulbillosum* (54 y 304.9) y una especie inédita (M6 y 107) así como también una correspondiente a *Trichoderma harzianum* con reportada actividad biocontroladora, la cual se utilizó como control positivo. Todos los microorganismos se mantuvieron como cultivos activos en agar papa glucosado (APG). Se realizaron cultivos duales en placas con APG a través del enfrentamiento de los diferentes aislamientos de *Cladorrhinum* (o la cepa control de *T. harzianum*) y de cada fitopatógeno sea *Bs* y *Fg*. Para ello se realizó una inoculación doble que consistió en la aplicación de un disco de micelio correspondiente a cada microorganismo en lados opuestos de la placa (separados x 3 cm entre sí) y la posterior incubación de las placas a 25°C. Asimismo, también se realizaron controles con cultivos axénicos de cada patógeno (sin antagonista). Los tratamientos fueron realizados por triplicado. Transcurridos 24, 48 y 72 horas de cultivo, se estimó tanto el radio de crecimiento miceliar del patógeno hacia el enfrentamiento con el potencial antagonista, como también hacia el lado opuesto de la interacción y se calculó el porcentaje de inhibición del patógeno por la presencia del biocontrolador. Los datos se analizaron estadísticamente a través de un ANOVA utilizando el programa INFOSTAT. Los aislamientos nativos pertenecientes a *C. samala* (52,6), *C. bulbillosum* (50,6) y el de referencia de *C. foecundissimum* (49,8) mostraron respuestas de inhibición similares a la cepa de *T. harzianum*, (48,5). No obstante, la respuesta de los patógenos reveló diferencias significativas entre *Bs* y *Fg* con medias de 39.64 y 48.37 respectivamente. En base a la existencia de diferencias fisiológicas entre los diferentes microorganismos evaluados en los enfrentamientos, este estudio sugiere que especies de *Cladorrhinum* como *C. samala*, *C. bulbillosum* y *C. foecundissimum* parecen tener potencial como agentes biocontroladores de *Bs* y *Fg* comparable a *T. harzianum*.

ACTIVIDAD *IN VITRO* DE AISLAMIENTOS NATIVOS DE *Purpureocillium lilacinum* SOBRE HUEVOS DE *Nacobbus aberrans*Gortari MC<sup>1,2</sup>, Hours RA<sup>2</sup><sup>1</sup>Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC-PBA)<sup>2</sup>Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI; UNLP, CONICET-La Plata). Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. 47 y 115 (B1900ASH) La Plata. Email: mcgortari@gmail.com

*Purpureocillium lilacinum* es un hongo natural del suelo con actividad antagónica sobre huevos y hembras de fito nematodos agalladores de la raíz. Entre estos, *Nacobbus aberrans* es uno de los que más afecta a una gran diversidad de cultivos en nuestro país. Su control se basa fundamentalmente en el uso de agroquímicos. Una alternativa más “amigable” desde el punto de vista ambiental es el control biológico utilizando antagonistas nativos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad de tres aislamientos nativos: *P. lilacinum* LPSC # 876 (aislado de suelo de espacio verde) y *P. lilacinum* Ls y Pv (de suelo con actividad hortícola) sobre huevos de *N. aberrans*.

La suspensión conidial se obtuvo a partir de cultivos de *P. lilacinum* (LPSC # 876, Ls y Pv) sobre agar papa dextrosa a 28±1°C durante 10 días. Las conidias se resuspendieron con Tween al 0,1% y la suspensión conidial se ajustó a una concentración de 1 × 10<sup>6</sup> conidias/ml. Se calculó el porcentaje de germinación cultivando 10 µl de la suspensión conidial/aislamiento sobre agar agua al 1% en cámara húmeda (16-24 h). La suspensión de huevos de *N. aberrans* se obtuvo por disolución de masas de huevos obtenidas de raíces de plantas de tomate platense infectadas experimentalmente y mantenidas en invernáculo. Se realizó el recuento de los huevos/ml a partir de una alícuota (10 µl) bajo microscopio estereoscópico. El proceso de infección se realizó en cajas de Petri conteniendo agar agua al 1% en las que se colocaron, y diseminaron con ansa microbiológica, 10 µl de la suspensión de huevos y de la suspensión conidial. Cada aislamiento fue evaluado por triplicado. Como control se utilizaron placas inoculadas con 10 µl de la suspensión de huevos y de conidias más 10 µl de agua destilada estéril. Las placas se cultivaron en oscuridad a 28±1°C y fueron evaluadas diariamente durante una semana bajo microscopio estereoscópico y microscopio óptico. Se evaluaron los porcentajes de eclosión, larvas móviles y de huevos infectados.

La germinación de *P. lilacinum* fue del 87-100%. El inóculo de *N. aberrans* estuvo constituido por huevos de diversos estadios embrionarios. El porcentaje inicial de eclosión osciló entre 3,3 y 7,9% y de larvas móviles entre 1,47 y 5,94%. A las 48 h ya se observaron huevos con signos de infección. Entre las 48 y 72 h se detectó desarrollo de conidióforos y producción de conidias y entre un 75 y 86% de los huevos presentaban signos variables de infección mientras que los estadios larvarios permanecían normales. A los 7 días se observaron estructuras fúngicas de reproducción completamente desarrolladas y entre un 80-100 % de parasitismo sobre los huevos. La eclosión se mantuvo dentro de los niveles iniciales y las larvas no mostraron signos de infección indicando que los huevos en su primera fase de la embriogénesis son más sensibles. No se observaron diferencias significativas en la actividad fúngica entre los 3 aislamientos respecto de la eclosión y el parasitismo bajo las condiciones del ensayo.

Los aislamientos de *P. lilacinum* manifestaron actividad antagónica contra huevos de *N. aberrans* independientemente del origen del aislamiento y pueden considerarse como potenciales agentes de control biológico de este fitoparásito.

AISLAMIENTO DE NEMATODOS Y HONGOS CON POTENCIAL ACTIVIDAD  
 NEMATOFAGA EN CULTIVOS HORTÍCOLAS DEL CINTURÓN VERDE DE LA CIUDAD  
 DE RÍO CUARTO, CÓRDOBA, ARGENTINA

Sosa AL<sup>1</sup>, Passone MA<sup>1</sup>, Rosso LC<sup>2</sup>, Salusso F<sup>3</sup>, Etcheverry M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Ecología Microbiana, Dpto de Microbiología e Inmunología, Fac. Cs Exactas Fco-Qca y Naturales, UNRC, Passone y Etcheverry son miembros de Carrera de Investigación de CONICET,

<sup>2</sup>Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Unità Organizzativa di Supporto Bari, <sup>3</sup>Cátedra de Horticultura, Dpto de Biología Agrícola, Fac.

Agronomía y Veterinaria, UNRC. Email: aniita.sosaa@gmail.com

*Nacobbus aberrans* es un endoparásito sedentario que induce agallas en las raíces de sus hospedadores, ocasionando severas pérdidas en diferentes cultivos hortícolas. Doucet y Di Rienzo fueron los primeros en reportar una elevada incidencia de este patógeno en cultivos de *Chenopodium album* en el cinturón verde de Río Cuarto. El control de nematodos presentes en cultivos hortícolas mediante hongos con actividad nematófaga es una herramienta promisorio para el control biológico de estas plagas hortícolas. Los objetivos del trabajo fueron: i) aislar e identificar especies de nematodos fitoparásitos y ii) aislar e identificar hongos potencialmente nematófagos del ecosistema de cultivos hortícolas del cinturón verde de la ciudad de Río Cuarto. El muestreo se llevó a cabo en una quinta del cinturón verde de la ciudad de Río Cuarto (33°06'46.1"S 64°16'33.8"W). Se recolectaron plantas de *Beta vulgaris* var. *cicla* (acelga) y de *Beta vulgaris* var. *conditiva* (remolacha) que presentaban sintomatologías de infección por este fitoparásito, es decir, presencia de agallas, marchitamiento, bajo índice de crecimiento. Se analizaron ejemplares de *Nacobbus* sp.; las hembras maduras y masas de huevos fueron extraídas del interior de agallas en raíces de acelga por dilaceración bajo un microscopio estereoscópico. Para la identificación a nivel molecular, primeramente se realizó la extracción del ADN en buffer Tris-HCl (pH 8, 10 mM). Se amplificó la subunidad ribosomal 18S, utilizando cebadores específicos NEM1 y REV1. Para el aislamiento de hongos se tomaron 10 muestras de las dos capas de suelo (rizosférico-R y no rizosférico-NR) de quintas destinadas al cultivo acelga y remolacha. Las muestras se diluyeron en agua peptonada (1%) y de cada dilución se sembró una alícuota de 0.1 ml por la técnica de siembra en superficie, en medio semi selectivo. Las placas se incubaron a 25 °C durante 10 días luego del cual se realizó el recuento fúngico y se estimaron las unidades formadoras de colonias por gramo de suelo. Todos los aislados se subcultivaron en agar dextrosa papa (PDA), y agar extracto de malta (MEA) para su identificación a través de características macroscópicas y microscópicas. Las secuencias obtenidas a partir de las 10 muestras analizadas correspondieron a 16E9ZAG002; las que fueron chequeadas para confirmar la identificación de las especies en la base de datos de secuencias NCBI utilizando el algoritmo BLAST. Se identificaron como pertenecientes a *N. aberrans*, con identidad y cobertura de 98% y 93% respectivamente. Los recuentos fúngicos se estimaron en  $1,3 \times 10^5$ ;  $4,7 \times 10^3$ ;  $6,0 \times 10^3$  y  $2,1 \times 10^4$  para RA, NRA, RR, NRR, respectivamente. Mediante la identificación macro y microscópica de los hongos aislados se pudo observar que los géneros fúngicos mayoritariamente presentes fueron: *Metarhizium* sp. (35.9%), *Paecilomyces* sp. (20,7%), *Purpureocillium* sp. (7,5%), *Levaduras* sp. (5,6%), *Byssochlamys* sp. (3.9%), *Hirsutella* sp. (3.8%), *Acremonium* sp. (1.9%), *Bauveria* sp. (1.9%), *Phialophora* sp. (1.9%) y *Haplosporangium* sp.(1.9%). Se observó un elevado grado de infestación por *N. aberrans* en cultivos de acelga susceptibles, coexistiendo en el agroecosistema hortícola con una diversidad de hongos potencialmente nematófagos.

PREDICCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ZWITTERMICINA A EN *Bacillus thuringiensis* A  
TRAVÉS DE AMPLIFICACIÓN GÉNICA DE ZMAA Y ZMAC

Sauka D, Lopez N, Berretta M, Benintende G

Insumos Bacterianos. Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires, ARGENTINA. Email: sauka.diego@inta.gob.ar

La bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* radica su capacidad tóxica en inclusiones cristalinas proteicas que sintetiza durante la esporulación y en otros factores de virulencia que produce durante su crecimiento vegetativo. Algunas cepas pueden secretar zwittermicina A (ZmA), un metabolito que demostró capacidad de potenciar la actividad insecticida de las toxinas de *B. thuringiensis*. Inicialmente fue identificado en *B. cereus* UW85 por su rol en la supresión de enfermedades de plantas. Ha demostrado un espectro amplio de actividad inhibiendo ciertas bacterias gram positivas, gram negativas y algunos microorganismos eucariotas. Debido a las propiedades atribuidas a la ZmA, es de interés detectar aquellas cepas de *B. thuringiensis* que sean capaces de producirla. Su presencia se evidencia tradicionalmente a través de HPLC y/o ensayos por difusión en medio sólido donde se evalúa su capacidad de inhibir *Erwinia herbicola*. Ambos métodos tienen en común que son laboriosos y consumen un tiempo significativo de trabajo. De tal forma, creemos que es necesario disponer de un método de predicción de la producción de ZmA en *B. thuringiensis* que sea rápido y sencillo. El objetivo de este estudio fue establecer un método de PCR para la detección de dos genes asociados a la síntesis de dicho metabolito. Se diseñaron dos pares de cebadores específicos empleando un software online (Oligoanalyzer 3.1), que amplifican un fragmento de 602 pb del gen *zmaA* y otro de 700 pb de *zmaC* respectivamente. Estos generaron productos de amplificación en las 7 cepas de *B. thuringiensis* empleadas como referencia. La cepa DSM2803 utilizada como control negativo, no produjo amplificación. Para confirmar la especificidad de las reacciones, los productos de PCR positivos fueron purificados, secuenciados y analizados utilizando BLAST. Los resultados confirmaron la especificidad de la amplificación. En conclusión, se demuestra que esta metodología constituye un ensayo útil para la predicción de la producción de ZmA. La misma se podría utilizar como primera aproximación en el tamizaje de cepas productoras de dicho metabolito en *B. thuringiensis*.

RESISTENCIA NATURAL A LA RADIACIÓN UV DE LA CEPA ENTOMOPATÓGENA  
*Bacillus pumilus* 15.1

García-Ramón DC<sup>1</sup>, Palma L<sup>2,3</sup>, Osuna A<sup>1</sup>, Vílchez S<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada, España; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina; <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina; <sup>4</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Universidad de Granada, España.  
Email: lpalma@fca.unl.edu.ar

A pesar que *Bacillus pumilus* no es considerada una especie entomopatógena, hemos reportado la toxicidad de la cepa *B. pumilus* 15.1 (Bp 15.1) para larvas de la mosca de la fruta del Mediterráneo (*Ceratitis capitata*), con una mortalidad de hasta el 94% en bioensayos. Esta cepa produce cuerpos paraesporales que recuerdan a los cristales formados por *B. thuringiensis* (Bt). Las inclusiones cristalinas producidas por Bt están constituidas fundamentalmente de  $\delta$ -endotoxinas, cuya producción está estrechamente ligada al proceso de esporulación, al igual que los cuerpos paraesporales de Bp 15.1. El/los factores de virulencia de Bp 15.1 no son conocidos, pero al producir cristales especulamos que podrían estar relacionados con la toxicidad de la cepa. Sabemos que uno de los inconvenientes de Bt como bioinsecticida es la poca estabilidad de las esporas y sus toxinas (cristales) frente a la radiación UV. Ante esta realidad, el objetivo de esta investigación fue ensayar la resistencia a la radiación UV-C de la nueva cepa entomopatógena Bp15.1 y compararla con otros microorganismos esporulantes. En este estudio fueron ensayadas las cepas Bp 15.1, *B. pumilus* M1 y M2, *Bt* var. *israeliensis* IPS 78/11 y var. *kurstaki* HD1, *B. subtilis* 168 y *B. cereus*. Cultivos de células vegetativas y también cultivos de esporas fueron irradiados con UV-C (254nm) durante 5, 10 y 15 min correspondiente a una energía de 818.5, 1637.0 y 4911.1 J/m<sup>2</sup>, en cámara de flujo laminar. La viabilidad de las células se determinó por diluciones seriadas en placas. La supervivencia después de la exposición de las células vegetativas y de las esporas mostró que Bp 15.1 fue mucho más resistente que las otras cepas de *Bacillus* ensayadas, excepto por *B. pumilus* M2 que mostró igual resistencia. Mientras las esporas de Bp 15.1 solo redujeron 3 órdenes de magnitud cuando se las expuso a la máxima radiación ensayada, las cepas de Bt redujeron 5 órdenes en el caso de *Bt* var. *kurstaki* HD1 y eliminaron completamente a *Bt* var. *israeliensis* 78/11. Incluso las esporas de Bp 15.1 fueron entre 2.7 y 350 veces más resistentes que las esporas de *B. subtilis* 168. Lo más remarcable fue la resistencia de las células vegetativas de Bp 15.1, que fue entre 1.7 y 2.6 órdenes de magnitud más resistentes que *B. subtilis* 168. La resistencia natural de la cepa Bp 15.1 a la radiación UV puede representar un gran avance en los programas de control biológico, solventando uno de los inconvenientes que presenta el control microbiano de plagas agrícolas con agentes vivos como es la baja viabilidad de las esporas y los cristales de Bt, lo que provoca la necesidad de una aplicación continua. Adicionalmente, una cepa con estas características posee un importante potencial biotecnológico ya que podría ser utilizada para la producción de toxinas Bt microencapsuladas (ej. CellCap®, Mycogen) con el objeto de protegerlas de la degradación a campo producida por la luz ultravioleta del sol.

AISLAMIENTO DE CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* AUTÓCTONAS DE LA PROVINCIA DE SANTA FE, ARGENTINA.

Palma L<sup>1,2</sup>, Lutz A<sup>1</sup>, Bernardi Desch NP<sup>1</sup>, García-Ramón DC<sup>3</sup>, Del Valle EE<sup>1,2</sup> y Scotta R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina.

<sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada, España. Email: lpalma@fca.unl.edu.ar

*Bacillus thuringiensis* (Bt) es una bacteria Gram positiva ubicua, esporulante y capaz de producir diversas proteínas con actividad tóxica y específica frente a varios insectos. Los biopesticidas formulados con sus toxinas o que incorporan a las mismas en eventos transgénicos son constantemente utilizados en el control de plagas agrícolas. Entre las toxinas más conocidas, se encuentran las proteínas Cry y Cyt ( $\delta$ -endotoxinas), producidas durante la esporulación de las bacterias y que constituyen el cristal paraesporal. Debido a su aplicación intensiva durante los últimos años, existen reportes de eventos de resistencia por parte de algunas especies plagas a algunas de las toxinas de mayor utilización comercial (ej. Cry1A). Por lo tanto, resulta necesario aislar nuevas cepas Bt que presenten actividad tóxica contra insectos con la finalidad de ampliar y mantener el espectro de actividad insecticida de esta bacteria. El objetivo de este trabajo fue el de generar una colección de cepas Bt autóctonas de la provincia de Santa Fe con nuevas propiedades insecticidas. Las muestras de suelo se colectaron con calador y fueron almacenadas a 4°C hasta su procesamiento. El aislamiento se llevó a cabo diluyendo 3 gramos de suelo en 10 ml de agua destilada estéril. Luego, el suelo se incubó a 70°C durante 30 minutos en baño de agua para eliminar la flora acompañante. De cada muestra se sembraron diluciones seriadas en cápsulas de Petri conteniendo agar nutritivo y se incubaron a 28°C durante 48-72 horas. A partir de cada colonia, se realizaron frotis teñidos con azul de Coomassie para la observación de los cristales paraesporales. Los bioensayos preliminares (cualitativos) de toxicidad se realizaron por contaminación superficial de dieta artificial para lepidópteros contenidas en cápsulas de Petri con cultivos esporulados. La actividad de las bacterias fue determinada en larvas de primer estadio de *Spodoptera cosmioides* (Walker). Como testigos positivos se utilizaron las cepas Bt HD1, HD133 e ISP82, empleándose agua destilada estéril como control negativo. Se aislaron 12 cepas tipo Bt en distintas localidades santafesinas. Entre éstas, destacamos la obtención de una cepa proveniente de la localidad de Cululú, que ha provocado elevada mortalidad en las larvas de primer estadio de *S. cosmioides*. Mediante la utilización de bacterias Bt es posible reducir las aplicaciones de productos químicos en los agroecosistemas. La identificación y aislamiento de nuevas cepas Bt con actividad insecticida contribuirá en preservar el potencial insecticida de este recurso biológico. Nuevas investigaciones son necesarias para establecer el potencial insecticida de las cepas aisladas frente a diferentes plagas agrícolas.

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE *Bacillus thuringiensis* PARA LARVAS DE LA POLILLA DEL MANZANO

Onco M<sup>1,2</sup>, Sauka D<sup>1,2</sup>, Pérez M<sup>1,2</sup>, Benintende G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Insumos Bacterianos. Instituto de Microbiología Agrícola (IMYZA). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires. ARGENTINA, <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Email: onco.mines@inta.gob.ar

*Bacillus thuringiensis* es una bacteria entomopatógena que se caracteriza por la producción simultánea de varias proteínas con propiedades insecticidas (Cry, Vip y/o Cyt) tóxicas para diversos artrópodos perjudiciales, entre ellos larvas de distintas especies de lepidópteros. La polilla del manzano, Carpocapsa, o por su nombre científico *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), representa una de las plagas endémicas más importante en frutales de pepita que afectan severamente al cultivo del manzano y peral en las regiones productoras de Argentina. Las larvas son las que ocasionan el daño, buscando las semillas para alimentarse, ya que éstas poseen pectinas, que atraen a dichos insectos. El ataque se manifiesta sólo sobre los frutos, los que una vez dañados, pierden valor comercial, afectando económicamente la región productora. Su medida de control radica principalmente en el empleo de insecticidas químicos con todos los riesgos medioambientales que traen aparejados, por lo que tecnologías que tengan a *B. thuringiensis* como base, constituyen una alternativa eficaz y ambientalmente segura. El objetivo del presente estudio fue seleccionar *B. thuringiensis* que resulten activos toxicológicamente para larvas de *C. pomonella*. Se analizaron 19 aislamientos argentinos y 10 cepas exóticas pertenecientes a distintas serovariedades de *B. thuringiensis* del cepario IMYZA-INTA. Los ensayos de toxicidad fueron realizados en dos placas de poliestireno de 24 pocillos donde se incorporó dieta artificial y una suspensión espora-cristal de la cepa en estudio (concentración final 5 µg/ml). La cepa *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* HD-1 se usó como control positivo y agua destilada estéril en el control de mortalidad natural. En cada pocillo se colocó una larva neonata y se registró la mortalidad tras 5 días de incubación a 29°C. Se obtuvieron 11 aislamientos argentinos y 2 cepas exóticas que demostraron una mortalidad 30%, 3 y 7 entre 30-60%, 5 y 1 mayores al 50%. Se descartaron aquellos ensayos con mortalidad natural en los controles superiores al 10%. Los aislamientos argentinos INTA H4-1 y H48-5 resultaron ser más tóxicos para *C. pomonella* que la cepa de referencia con mortalidades comprendidas entre 75-78%. En cambio ninguna de las cepas exóticas fue más activa que HD-1 (68,8±6,3%). Estos estudios preliminares permitieron la selección de aislamientos argentinos de *B. thuringiensis* con un nivel elevado de toxicidad para larvas neonatas de *C. pomonella* y marcarían el camino al desarrollo de nuevos larvicidas biológicos para un eficiente manejo de esta plaga.

CARACTERIZACIÓN DE *Bacillus thuringiensis* INTA MO4-4 TÓXICO PARA EL ESCARABAJO DE LA CAMA DE POLLO

Pérez M<sup>1,2</sup>, Sauka D<sup>1,2</sup>, Onco M<sup>1,2</sup>, Benintende G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Insumos bacterianos. Instituto de Microbiología Agrícola (IMYZA). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires. ARGENTINA. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Email: perez.melisa@inta.gov.ar

*Bacillus thuringiensis* es una bacteria entomopatógena que se utiliza como ingrediente activo de formulaciones de pesticidas biológicos. Se caracteriza por producir durante la esporulación inclusiones cristalinas que contienen las proteínas Cry tóxicas para diferentes insectos. Además puede secretar otros factores de virulencia durante la fase vegetativa como la  $\delta$ -exotoxina, un metabolito termoestable e inespecífico. Los cristales ingeridos por larvas de insectos susceptibles son solubilizados al llegar al intestino medio en condiciones alcalinas y procesados enzimáticamente generando las toxinas activas. Estas se unen a receptores específicos y forman poros en la membrana de las células epiteliales desencadenando un proceso que lleva al insecto a la muerte. En este trabajo se determinan los caracteres fenotípicos y genotípicos principales de *B. thuringiensis* INTA Mo4-4, un aislamiento nativo con toxicidad para el escarabajo de la cama de pollo *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera). La presencia de cristales se evidenció en un microscopio de contraste de fases y sus componentes proteicos analizados a través de SDS-PAGE. Se evaluó la capacidad de solubilización de los mismos *in vitro* empleando distintas soluciones tamponadas (NaBr 3,3 M pH 6,6; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 50 mM pH 10,5; NaOH 0,1 M pH 12,9) para luego ser digeridos con tripsina. Se empleó PCR para detectar genes insecticidas (*cry3*, *cry7*, *cry8*, *cry23* y *cry37*) y un gen asociado a la síntesis de  $\delta$ -exotoxina de tipo I (*thuE*). Para confirmar la producción de  $\delta$ -exotoxina se realizaron bioensayos con larvas de *Musca domestica*. Se establecieron relaciones de parentesco con cepas de referencia a través de REP-PCR. Los resultados mostraron la presencia de cristales cuadrados aplanados que se asociaron a un perfil proteico de ca. 72 kDa, similar al de la cepa DSM2803 perteneciente al serovar *tenebrionis*. Mediante SDS-PAGE se observó también que los cristales se solubilizaron en todas las condiciones, siendo el Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> el más eficiente. La tripsinización de las proteínas solubilizadas mostró un péptido resistente a la proteasa de ca. 60 kDa similar al de la mayoría de las proteínas Cry. INTA Mo4-4 presentó los genes *cry3*, *cry23* y *cry37* y la ausencia de  $\delta$ -exotoxina al igual que DSM2803. Sin embargo, esta cepa fue previamente ensayada con *A. diaperinus* resultando significativamente menos tóxica que INTA Mo4-4. Otra diferencia fue su perfil electroforético de REP-PCR. Estos resultados nos permitieron conocer caracteres fenotípicos y genotípicos importantes de INTA Mo4-4 y sus diferencias con cepas similares. Este conocimiento es indispensable en microorganismos con potencial para el desarrollo de nuevos bioinsecticidas.



ESTUDIO DE TAMIZAJE DE *Bacillus thuringiensis* TOXICOS PARA *Alphitobius diaperinus*

Pérez M<sup>1,2</sup>, Sauka D<sup>1,2</sup>, Onco M<sup>1,2</sup>, Benintende G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Insumos bacterianos. Instituto de Microbiología Agrícola (IMYZA). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires. ARGENTINA. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Email: perez.melisa@inta.gob.ar

*Alphitobius diaperinus*, conocido como el “escarabajo de la cama de pollo” es un coleóptero de la familia Tenebrionidae que afecta instalaciones avícolas produciendo daños físicos en las mismas, efectos traumáticos en las aves, es vector y reservorio de enfermedades aviares, y puede inducir reacciones alérgicas en los trabajadores de las granjas. Su control está basado principalmente en el uso de productos químicos, pero su aplicación indiscriminada puede generar resistencia en el insecto, posible intoxicación o contaminación de las aves de producción así como también de los trabajadores. Una estrategia complementaria o alternativa de control podría incluir el uso de bioinsecticidas a base de *Bacillus thuringiensis*. Esta bacteria entomopatógena se caracteriza por producir cristales proteicos durante la esporulación, los que junto a otros factores de virulencia liberados al medio durante la fase vegetativa de crecimiento son responsables de la toxicidad para distintos órdenes de insectos. El objetivo de este trabajo fue la selección de *B. thuringiensis* tóxicos para larvas de *A. diaperinus* y la determinación de la fracción de los cultivos que contienen el o los ingredientes activos. Se analizaron 19 aislamientos nativos y 21 cepas exóticas de *B. thuringiensis* pertenecientes al cepario del IMYZA-INTA. El cultivo completo se obtuvo sembrando 50 µl de una suspensión concentrada espóra-cristal de los mismos en 50 ml de caldo de esporulación BM e incubando en agitación durante 72 h a 29°C. La biomasa y el sobrenadante fueron obtenidos por centrifugación de los cultivos completos. Cada tratamiento fue suministrado en la dieta larval en una proporción del 15 % y se fraccionó en dos placas de poliestireno de 24 pozos (Nunc 143928). Para el control negativo sólo se agregó a la dieta agua destilada estéril. Se colocó una larva de 2° estadio de *A. diaperinus* por pocillo. La mortalidad se registró luego de 7 días de incubación a 29°C y los resultados corregidos por la mortalidad natural con la fórmula de Schneider-Orelli. Los cultivos completos de todas las cepas presentaron mortalidades menores al 20%, exceptuando al aislamiento nativo INTA Mo4-4 que presentó la mayor toxicidad (41,9±10,8%). El porcentaje de mortalidad de su biomasa (45,8±16,8%) resultó significativamente más elevado que el de su sobrenadante (4,2±0,0%). Estos estudios permitieron seleccionar un aislamiento nativo de *B. thuringiensis* tóxico para *A. diaperinus*, donde los factores de virulencia responsables de la acción tóxica se hallaron en la biomasa. Estudios toxicológicos posteriores utilizando esta fracción nos permitirán detectar la concentración letal media y avanzar en el desarrollo de un bioinsecticida para el control de esta plaga.

CONSUMO FOLIAR DE MAÍZ INOCULADO CON EL HONGO ENTOMOPATÓGENO  
*Beauveria bassiana* (ASCOMYCOTA: HYPOCREALES) POR *Spodoptera frugiperda*  
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Russo M.L.<sup>1</sup>, Pelizza S.A.<sup>1,2</sup>, Cabello M.N.<sup>1,3</sup>, Vianna M.F.<sup>1</sup>, Scorsetti A.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Spegazzini (UNLP), calle 53 # 477, la Plata, Argentina, <sup>2</sup>CEPAVE (CCT-La Plata)-CONICET-UNLP, calle 2 # 584, La Plata, Argentina, <sup>3</sup>Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Email: florvianna@yahoo.com.ar

*Spodoptera frugiperda* es la plaga de mayor importancia económica en muchos cultivos de nuestro país, siendo una de las más importantes para el cultivo de maíz. *S. frugiperda* afecta la productividad de las plantaciones y por ende la economía de muchos agricultores, no solo por la pérdida de los cultivos sino también por la existencia de una constante relación entre el costo del control de la plaga y las pérdidas producidas por ésta. Una alternativa al uso de insecticidas químicos, es el uso de hongos entomopatógenos que son importantes agentes de control biológico, algunos de ellos se aislaron como endófitos naturalmente en varias plantas, mientras que otros se han introducido artificialmente mediante el uso de diferentes técnicas de inoculación. *Beauveria bassiana* es ampliamente conocido como hongo entomopatógeno, con distribución mundial y como endófito puede vivir dentro de las plantas y no causar daño evidente para el huésped. El objetivo del trabajo fue evaluar la influencia de *B. bassiana* actuando como endófito en plantas de maíz sobre el consumo y la preferencia alimenticia de larvas (L2) de *S. frugiperda*. La preferencia alimenticia de las larvas se determinó ofreciéndole simultáneamente hojas de maíz inoculadas con *B. bassiana* utilizando la técnica de aspersión en hoja, en las cuales se corroboró previamente que el hongo entomopatógeno se había establecido como endófito, y hojas no inoculadas (controles). Ambas hojas, fueron cortadas en piezas de 6 x 3 cm, escaneadas y colocadas dentro de una caja de Petri, luego se agregó una larva en el centro de cada caja donde se las dejó durante 24 h. Se realizaron 3 repeticiones de 30 réplicas cada una, al final del ensayo los restos de hojas fueron escaneados nuevamente determinándose así el área total consumida (Software ImageJ) por medio de la diferencia entre el área de la hoja no consumido y el área restante después de la alimentación. Los resultados fueron analizados por medio de un test de *t*, el cual mostró diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre las plantas controles y las tratadas, demostrando que la presencia de *B. bassiana* como endófito, puede disminuir la preferencia y el consumo de hojas de maíz por parte de una de las principales plagas de este cultivo. Estos resultados preliminares son muy alentadores ya que esta podría ser una manera de reducir la cantidad de insecticidas químicos utilizados para el control de *S. frugiperda* en un plan de Manejo Integrado de Plagas.

## USO DE LOMBRICOMPUESTO Y UN INOCULANTE BACTERIANO EN EL CULTIVO DE ALGODÓN. SU EFECTO EN DOS SUELOS DIFERENTES

Giraudó RT, Cossoli MR, Iglesias MC

Cát. Microbiología Agrícola- Fac. de Ciencias Agrarias – UNNE. Sargento Cabral 2131; +54-379-4427589 int 158. Email: mcossoli@gmail.com

La sustentabilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo debe fomentar el uso y manejo efectivo de los recursos internos de los agro-ecosistemas. En este sentido, el lombricomposteo y los inoculantes microbianos son componentes vitales de los sistemas sustentables, y constituyen un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable de reducir los insumos externos, mejorando la cantidad y calidad de los recursos internos. En el caso de la producción de algodón, son una opción accesible al productor. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la incorporación de lombricomposteo y un inoculante bacteriano en el cultivo de algodón, en dos suelos con características diferentes. El ensayo se realizó en contenedores, en situación controlada de riego bajo invernáculo. Se utilizó un diseño factorial que incluyó tres factores: Factor 1) Suelo (Castelli, Chaco), con dos niveles de fertilidad: **S1**-pH, 6,7; P, 116,5 ppm; N.Total, 0,08; C.O, 0,86; NO<sub>3</sub>; 41,2 cmol.kg<sup>-1</sup>; **S2**-pH, 6,6; P, 66,5 ppm; N.Total, 0,07; C.O, 0,94; NO<sub>3</sub>; 80,6 cmol.kg<sup>-1</sup>); Factor 2) Lombricomposteo, a partir de residuos de desmotado de algodón, con dos niveles: **L1**-40 tn.ha<sup>-1</sup>, **L2**-Sin lombricomposteo; Factor 3) Inoculación a partir de un aislamiento con características morfológicas de *Azotobacter* sp (10<sup>6</sup> UFC.ml<sup>-1</sup>), con tres niveles: **In1**-Inoculación por Riego, **In2**-Inoculación en Semilla, **In3**-Sin inoculación. De la combinación resultaron 12 tratamientos con 4 repeticiones (48 unidades experimentales). Luego de 50 días de la siembra se obtuvieron datos de Altura de planta, Área foliar, Peso de biomasa aérea, Peso de raíz y Peso total de plantas. Los datos se analizaron mediante ANOVA y prueba de Tukey para comprobación de los promedios ( $p \leq 0,05$ ). Cuando se analizó el primer factor (Suelo) se pudo observar que en todas las variables medidas el S2 fue significativamente mayor al S1. Cuando al análisis se incorpora el segundo factor, Lombricomposteo, se observó que el agregado del mismo respondió diferente en ambos suelos, en el S1, L1 fue mayor significativamente a L2, en todas las variables; en S2, solamente en las variables Área foliar y peso de raíz. Cuando analizamos el tercer factor (Inoculación), si bien en la mayoría de los casos se podría visualizar una respuesta positiva a la inoculación, esta fue variable según el Suelo (S1 y S2) y el agregado o no de lombricomposteo (L1 y L2). En el caso de S1\*L1 hubo una tendencia a ser mejor el In1, mientras que en S1\*L2 fue mayor In2; para S2\*L1, In2 fue mayor y en S2\*L2, la tendencia fue mejor para el tratamiento sin Inóculo. Coincidiendo los resultados con los niveles de P y N de ambos suelos y su relación con el inóculo, si bien las diferencias no fueron significativas para este factor. Del total de interacciones evaluadas solo fue significativa para el Suelo\*Lombricomposteo en la variable Altura de plantas. Las tendencias y diferencias encontradas en este ensayo se relacionan con los niveles de nutrientes de ambos suelos.

MICROBIOTA CULTIVABLE DE SUELOS AGRÍCOLAS CON Y SIN EXPOSICIÓN  
PROLONGADA A PESTICIDAS

Carranza CS<sup>1</sup>, Aluffi ME<sup>1</sup>, Barberis CL<sup>1</sup> y Magnoli CE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nacional N° 36 Km 601 (5800) Río Cuarto, Córdoba, Argentina. E-mail: ccarranza@exa.unrc.edu.ar

La preservación de la integridad de la capacidad metabólica de la microbiota se considera un requerimiento fundamental para el mantenimiento de la calidad del suelo. Las actividades humanas afectan tanto el tamaño como la estructura de la población microbiana del suelo, entre los que se encuentran los hongos. Numerosas actividades como la agricultura, desorganizan largas extensiones de vegetación y suelo provocando una redistribución de los propágulos fúngicos y generando nuevas fuentes nutritivas para los hongos. Está comprobado que las prácticas agrícolas y, en particular, las asociadas al uso de pesticidas pueden alterar intensamente la funcionalidad de la microbiota. El objetivo de este trabajo fue comparar la microbiota cultivable aislada de suelos agrícolas con una exposición prolongada a pesticidas (más de 10 años) y en suelos agrícolas sin exposición. Se muestrearon suelos del sur de la provincia de Córdoba con antecedentes de una exposición prolongada a diferentes pesticidas y explotación extensiva de soja y maíz. También se tomaron muestras de suelos de la misma zona sin antecedentes de exposición a pesticidas (más de 20 años). Cada muestra se tomó de la capa superior del suelo en cada uno de los sitios elegidos para el muestreo. En el laboratorio, se secaron en estufa de aire forzado y se pasaron por un tamiz de 2 mm de malla para eliminar restos de vegetales. Luego fueron homogeneizadas y cuarteadas hasta lograr una sub-muestra representativa de aproximadamente 500 g para su análisis. Se analizó la microbiota utilizando el método de diseminación en superficie en el medio de cultivo agar diclorán rosa de bengala cloranfenicol (DRBC). Los géneros fúngicos aislados con mayor frecuencia en todas las muestras de suelo sin exposición a pesticidas fueron *Micelio esterilia*, *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. Todos fueron aislados en una frecuencia mayor al 60%. *Cladosporium* spp., *Zygomycetes* y *Alternaria* spp. se aislaron en una frecuencia moderada; mientras que *Aspergillus* spp., *Talaromyces* spp., *Aspergillus* sección *Flavi*, *Aureobasidium* spp., *Acremonium* spp. y *Paecilomyces* spp se aislaron en muy baja frecuencia. Los géneros más frecuentes en las muestras de suelo expuestos a pesticidas fueron *Micelio esterilia*, *Trichoderma* spp., *Aspergillus* sección *Flavi* y *Cladosporium* spp. Seguidos por los géneros *Pythium* spp., *Penicillium* spp y *Fusarium* spp. los cuales se aislaron con una frecuencia moderada, mientras que *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Aureobasidium* spp., *Paecilomyces* spp., *Talaromyces* spp. y *Endomyces* spp. se encontraron en muy baja frecuencia (menor al 10%) ( $p < 0,0001$ ). Estos resultados muestran que sólo algunos géneros fúngicos se aislaron en ambos suelos analizados, lo cual sugiere que la presencia de pesticidas supone una presión selectiva que afecta la actividad microbiana del suelo, favoreciendo el desarrollo de algunas especies fúngicas más adaptadas al ecosistema en detrimento de otras.

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN COMBINADA CON *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* DE DOS CULTIVOS DE COBERTURA SECADOS CON GLIFOSATO SOBRE DOS GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS RIZOFÉRICOS

Escobar Ortega JS, Marcos MV, Acosta C, Guardia Claros L, García de Salamone IE

Facultad de Agronomía, UBA, Av. San Martín 4453 C.P.1417 CABA. Argentina; 54-11-45248061.  
Email:jhovana@agro.uba.ar

Si bien el cultivo de soja es muy rentable, su escaso aporte de residuos fácilmente descomponibles por su baja relación C/N, deja al suelo expuesto a la acción erosiva y plantea la necesidad de incorporar herramientas para reducir la erosión, mantener la calidad y así favorecer la sustentabilidad del sistema. Los cultivos de cobertura (CC) y la inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR, pueden ser alternativas apropiadas. Aún, se dispone de muy poca información de los efectos de la inoculación sobre plantas forrajeras que son utilizadas como CC. Dado que su crecimiento se interrumpe con glifosato, los objetivos de este trabajo fueron evaluar los efectos de la inoculación combinada de dos CC con dos PGPR *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* y del secado de estos con glifosato sobre los microorganismos nitrificadores y celulolíticos de la rizósfera. Se condujo un ensayo en la localidad de Treinta de Agosto, Buenos Aires con un diseño factorial en parcelas divididas con bloques completos aleatorizados y tres repeticiones. En parcelas principales se establecieron dos niveles de fertilización 0 y 7-40-0-5 (N-P-K-S). En subparcelas se sembraron centeno (*Secale cereale* var. Quehué) y avena (*Avena sativa* var. Aurora). En sub-subparcelas se ubicaron dos tratamientos de inoculación sin y con aplicación de PGPR justo previo a la siembra con 4 ml/kg de semilla. Muestras de suelo rizosférico de 0-20 y 20-40 cm de profundidad se obtuvieron antes de la aplicación del glifosato (AG), un mes después del secado (DG) y a la cosecha de soja (CS), a partir de los cuales se realizaron estimaciones del número más probable (NMP) de nitrificadores y de celulolíticos mediante utilización de microplacas con medios líquidos selectivos para cada grupo funcional. La única fuente de carbono y energía para celulolíticos fue un círculo de papel de filtro estéril y sulfato de amonio fue la única fuente de N para nitrificadores. Luego de 15 días a 30° C se estimaron los NMP mediante la observación de la degradación del papel y la cantidad de nitratos estimada con bandeletas comerciales, respectivamente. Se aplicó análisis de varianza y comparación de medias según la prueba de Tukey (p 0,05) sobre los datos obtenidos. La cantidad de nitrificadores disminuyó en la rizósfera de ambos CC solamente en DG. En AG los NMP de ambos tipos microbianos fueron mayores y estos no se diferenciaron en DG y en CS. Esto puede significar que el agregado de glifosato provoca cambios bastante permanentes en estas comunidades microbianas, Las mismas no fueron modificadas, en ningún caso, por la fertilización aplicada. El NMP de ambos tipos microbianos fue menor en la capa más profunda dado que estos son en su mayoría aerobios. En síntesis, el secado con glifosato y la inoculación con PGPR, en ciertos casos provocan cambios en las cantidades y actividades de los dos grupos funcionales estudiados.

## ESTUDIOS DE GRUPOS BACTERIANOS COMO INDICADORES DE CALIDAD DE SUELO EN RELACIÓN AL MANEJO FORESTAL EN UN MATORRAL ALTO NATIVO ANDINO-PATAGÓNICO

Carron AI<sup>1,2\*</sup>, Garibaldi LA<sup>2,3</sup>, Fernandez N<sup>1,2</sup>, Cassán F<sup>4</sup>, Fontenla S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lab. de Microbiología Aplicada y Biotecnología CRUB Universidad Nacional del Comahue e INIBIOMA, <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), <sup>3</sup>AGRECO, Sede Andina, Universidad Nacional de Río Negro, <sup>4</sup>Laboratorio de Fisiología Vegetal y de la Interacción Planta-Microorganismo Universidad Nacional del Río Cuarto.

Email: ayecarron@gmail.com

El matorral es uno de los ecosistemas importantes de los bosques Andino-patagónicos, debido a su potencial para la regeneración del bosque y para el aprovechamiento de sus recursos económicos (madera y energía). Son pocos, y requeridos, los estudios sobre el uso sustentable de estos ecosistemas y sobre su resiliencia al disturbio. Los microorganismos del suelo intervienen en los ciclos biogeoquímicos y en los procesos pedogénicos, son capaces de promover el crecimiento vegetal (PGPR), entre otras, y por ello condicionan las comunidades vegetales y viceversa. También se considera a los microorganismos como sensibles a los efectos de diferentes disturbios y buenos indicadores de calidad de suelo. El objetivo de este trabajo es analizar el efecto de dos prácticas de manejo forestal, a un año de establecidas, sobre microorganismos asociados al sistema suelo-planta. Se espera que los cambios producidos por el manejo forestal afecten negativamente las comunidades microbianas del sistema suelo-planta al incrementarse la intensidad del manejo. En el paraje El Foyel se establecieron ocho parcelas experimentales con dos manejos forestales: intensidad de raleo (área basal removida de 70, 50, 30 y 0%) e implantación de especies arbóreas (con y sin la introducción de plantines de especies arbóreas nativas). Se colectaron 25 sub-muestras de suelo por parcela para conformar una muestra conjunta por cada una y se realizaron recuentos en placa de UFC/g suelo seco de bacterias totales y distintos grupos funcionales PGPR (por triplicado y en medios de cultivo selectivos). Los resultados se analizaron en un modelo bifactorial con un ANOVA dos-vías. En general, los recuentos de bacterias totales presentaron valores de  $10^6$ , seguidas de las fijadoras de nitrógeno con  $10^{5-6}$ , y de bacterias presuntivas de los géneros *Azospirillum* y *Pseudomonas* ( $10^4$  y  $10^3$ , respectivamente). Se observó efecto de interacción entre el raleo y la implantación. En bacterias totales y fijadoras de nitrógeno el recuento aumentó en el raleo bajo (30%) implantado y en el raleo intermedio (50%) sin implantar. En *Azospirillum sp.* los recuentos aumentaron en el raleo intermedio cuando no se implanta y en el raleo intenso cuando se implanta, mientras que en *Pseudomonas sp.* no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados de este trabajo permiten observar una respuesta variable y sensible de los diferentes grupos funcionales a ambos tipos de tratamientos, siendo evidente que diferentes prácticas de manejo influyen de forma diferencial sobre distintos grupos microbianos, sin observarse una tendencia clara. Sin embargo estos estudios deben ampliarse considerando la interacción con otros factores ambientales como características del suelo y vegetación, comunidades y diversidad de especies, a fin de poder interpretar su potencial como indicadores tempranos del efecto del disturbio.

RELEVAMIENTO DE CEPAS PRODUCTORAS DE MOLÉCULAS DE *QUORUM SENSING*  
EN LA RIZÓSFERA DE MANÍ

Nievas FL<sup>1</sup>, Ramírez Torres EK<sup>1</sup>, Giordano WF<sup>1</sup>, Bogino P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Molecular, Facultad de Cs Exactas, Fco-Qcas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.  
Email: fnievas@exa.unrc.edu.ar

La rizósfera es la zona de interacción entre el sistema radical de los vegetales y el suelo circundante. En el suelo rizosférico (SR) se encuentra establecida una amplia y diversa comunidad microbiana que interacciona con las raíces. Uno de los procesos de comunicación bacteriano más estudiado es el mecanismo de *quorum sensing* (QS), el cual depende de la producción de señales químicas que se acumulan hasta alcanzar un umbral de concentración que permite la regulación coordinada de la expresión de genes y por lo tanto del comportamiento bacteriano. Una amplia variedad de rizobacterias producen moléculas de QS para comunicarse entre sí a los fines de adaptar su fisiología a los cambios medioambientales.

Debido a la importancia ecológica y agroeconómica que el cultivo de maní representa para la provincia de Córdoba, el objetivo del presente trabajo consistió en realizar un aislamiento de cepas bacterianas obtenidas de SR de maní a los fines de caracterizar la producción de moléculas de QS y evaluar procesos biológicos regulados por QS.

Plantas de maní en etapa de prefloración fueron recogidas de la zona rural de Río Cuarto y el SR asociado a sus raíces fue obtenido en buffer fosfato pH 7,0. Diluciones de la suspensión de SR fueron sembradas en agar nutritivo y las colonias resultantes de las placas de mayor dilución fueron aisladas. Un total de 130 cepas fueron evaluadas para determinar la producción de moléculas de QS del tipo acil homoserín lactonas (AHL) utilizando los bioensayos con *Chromobacterium violaceum* CV026 y *Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (pZLR4). Las cepas de mayor producción de AHL (Q30, Q52 y Q53) fueron identificadas mediante secuenciación del gen de *ARNr 16S* y caracterizadas en función de su habilidad para formar biofilm, movilidad y autoagregación. Estos ensayos biológicos fueron probados y contrastados con cepas rizosféricas de maní no productoras de AHL (Q44, Q71 y Q92).

El recuento del SR fue de  $1,63 \times 10^{10}$  ufc g<sup>-1</sup>. Todas las cepas estudiadas fueron negativas en el bioensayo de detección de AHL de cadena corta con *C. violaceum* CV026. No obstante, un 41,2 % de las cepas aisladas fueron capaces de producir AHL de cadena larga en el bioensayo con *A. tumefaciens*. Se seleccionaron tres cepas de mayor producción, las cuales fueron identificadas con géneros pertenecientes a bacterias típicamente aisladas de suelos, *Microbacterium* (Q30), *Bacillus* (Q52) y *Pseudomonas* (Q53). En general, las cepas productoras de AHLs mostraron mayor capacidad para formar biofilm (Q30 y Q53) y fenotipos altamente autoagregativos (Q52), en comparación con cepas no productoras de señales de QS. El ensayo de movilidad reveló que la cepa Q53 productora de AHL y la cepa no productora Q92 fueron las más móviles.

Los resultados obtenidos del presente trabajo permiten concluir que el micronicho rizosférico de maní alberga una comunidad bacteriana con una abundante cantidad de miembros con capacidad para comunicarse por QS a través de moléculas señal del tipo AHL de cadena larga y que las cepas productoras de molécula señal estuvieron fuertemente asociadas a procesos de interacción celular claves en el establecimiento de la comunidad bacteriana en la rizósfera.

DETERMINACIÓN DE BACTERIAS DIAZOTRÓFICAS CON ACTIVIDAD PROMOTORA DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN *Daucus carota* L.

Gaviria GJ<sup>1</sup>, Restrepo FGM<sup>1</sup>, Galeano VNF<sup>1</sup>, Hernández A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Católica de Manizales. Instituto de Investigación en Microbiología y Biotecnología Agroindustrial. Grupo de Investigaciones Biológicas, Colombia. <sup>2</sup>Universidad de la Habana. Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Cuba. Email: jgaviria@ucm.edu.co

El nitrógeno cumple funciones esenciales como la constitución de moléculas para formación de clorofila, enzimas, hormonas, aminoácidos y aumenta el contenido de proteínas en los frutos. El estudio de grupos funcionales de bacterias asociados a los cultivos se convierte en la principal fuente para elaborar bioinsumos, contribuyendo a la disminución del uso de fertilizantes de origen químico. Por estas razones, se propuso aislar bacterias diazotróficas con actividad promotora del crecimiento vegetal en zanahoria. El cultivo se localizó en la Granja Tesorito de la Universidad de Caldas (Manizales, Caldas, Colombia) y se realizaron 3 muestreos a los 30, 60 y 115 días. El aislamiento de las bacterias diazotróficas se efectuó en medios de cultivo semisólidos libres de nitrógeno (NFB, JNFB y LGI-P). A los aislamientos se les realizó descripción macro y microscópica, identificación bioquímica y molecular. Se evaluaron características de promoción del crecimiento como determinación de compuestos indólicos (reactivo de Salkowsky) y actividad nitrogenasa (reducción del acetileno). Como cepa de referencia se empleó *Gluconacetobacter diazotrophicus* (ATCC 49037). A los 30 días se obtuvieron 26 aislamientos de bacterias diazotróficas, 3 a los 60 y 3 a los 115 días. Se recuperaron 20 aislamientos asociados a la rizosfera y 12 al rizoplano. De acuerdo con las características macro y microscópicas se identificaron 6 morfotipos. Todos los aislamientos fueron catalasa positiva, el 96,8 % fue ureasa positiva, el 43,75 % fue oxidasa positiva y ninguno presentó actividad proteolítica. El principal carbohidrato fermentado fue el citrato (75 %), seguido por glucosa (43,75 %), rafinosa (43,75 %) y arabinosa (40,62 %) respectivamente. La identificación molecular mostró 5 géneros presentes: *Rhizobium* spp., *Achromobacter* spp., *Bacillus* spp., *Enterobacter* spp. y *Stenotrophomonas* spp. La producción de compuestos indólicos presentó concentraciones entre 9,73 y 112,8 µg/mL. La cepa de referencia presentó una actividad mayor estadísticamente significativa a la de los aislamientos evaluados, con una producción de compuestos indólicos de 172,5 µg/mL. Sin embargo, en la actividad nitrogenasa se encontraron dos aislamientos con actividad mayor o similar a la cepa de referencia (*Bacillus weihenstephanensis* GIBI411 y *Achromobacter spanius* GIBI394). Es importante evaluar el desempeño de las bacterias con resultados promisorios en laboratorio, en semillero y en campo a diferentes condiciones ambientales. Los aislamientos obtenidos en este estudio se podrían implementar en el desarrollo de biofertilizantes, que mitiguen el daño ecológico ocasionado por la utilización de fertilizantes químicos nitrogenados. Agradecimientos a Colciencias-Colombia, Universidad Católica de Manizales y Universidad de Caldas por la financiación de este proyecto.



## EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA EN ESTADIOS INICIALES DE MAÍZ DULCE INOCULADO CON AZOSPIRILLUM ANTE EL ESTRÉS HÍDRICO.

Benavides L, Larrandart A, García Alba M, Ibarra C, López S, Malter Terrada M

Comisión Nacional de Energía Atómica. Email:larrandart@cae.cnea.gov.ar

Los efectos benéficos de la asociación de *Azospirillum sp.* con gramíneas se conocen, pero los resultados son heterogéneos debido a su dependencia de condiciones agroclimáticas y de la especificidad de la relación cepa-planta.

Para evaluar la respuesta del maíz dulce híbrido inoculado con *Azospirillum* ante el estrés hídrico se realizó un ensayo en invernáculo en macetas de 5 litros, empleando un sustrato formado por suelo:perlita: arena, (2:1:1). En función del agua útil (AU) se fijaron 2 tratamientos: a) DH: déficit hídrico, 40 % del agua útil (AU) y b) HO: humedad óptima, 100% del AU, mantenidos con riego diario. El maíz se inoculó con cepa AZ 39 de *A.brasilense* (12 ml/kg semilla) en 2 formas: inóculo experimental INTA (I<sub>1</sub>) y formulación comercial *Nitragin Maíz* (I<sub>2</sub>), contrastados con un testigo (T) sin inocular. Se evaluó la velocidad (VG) y % de germinación (%G). En 3 hojas desarrolladas (V3) se midió volumen de raíces (VR) mediante el principio de Arquímedes. El área foliar (AF) se estimó con programa Image J. Se determinó biomasa aérea (BA) y radical (BR). Diseño experimental: 4 repeticiones por tratamiento. Análisis estadístico: ANOVA 2 factores cruzados.

No se hallaron diferencias en %G, entre DH y HO, ni entre I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> y T. Se observaron diferencias en VG. HO germinó 1 día antes que DH y alcanzó V3 4 días antes que DH. VR no mostró diferencias significativas (P 0.05) entre T, I<sub>1</sub> e I<sub>2</sub>, (3.06, 3.38 y 3.69 cm<sup>3</sup>, respectivamente) pero se observó diferencias (P<0.05) entre tratamientos de humedad (HO: 2.67 cm<sup>3</sup>; DH: 4.08 cm<sup>3</sup>). Similares tendencias se obtuvieron en BA (HO: 0.37 g; DH: 0.52 g), BR (HO: 0.23 g; DH: 0.4 g), y en la relación BR/BA (HO: 0.63; DH: 0.77). Al comparar T, I<sub>1</sub> e I<sub>2</sub>, (0.71, 0.72 y 0.68, respectivamente) para cada tratamiento de humedad, no hubo diferencias. Mayores valores de BA y BR en DH frente a HO fueron contradictorios, ya que la producción de BA y BR disminuye en plantas con estrés hídrico. No obstante, mayores valores en BR/BA en DH podrían explicar el mayor crecimiento de la raíz como mecanismo de defensa de la planta, ya que las plantas pueden ajustar parcialmente su grado de turgencia mediante el incremento de la concentración de solutos en las células, siendo la raíz menos afectada. A su vez, las plantas bajo DH tardaron más en llegar a V3, cosechándose más tarde que las plantas bajo HO, pudiendo aumentar su biomasa. Los tratamientos sin estrés mostraron mayor AF (DH: 34.17cm<sup>2</sup>; HO: 43.17 cm<sup>2</sup>). No se hallaron diferencias entre T, I<sub>1</sub> e I<sub>2</sub> (38.75; 39.88 y 37.38 cm<sup>2</sup> respectivamente) dentro de cada nivel de humedad. Se encontró una mayor relación AF/BA en HO: 119.5 cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup> que en DH: 68.65cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>, pero no hubo diferencias entre T, I<sub>1</sub> e I<sub>2</sub> dentro de cada nivel de humedad (105.34; 94.29 y 82.6 cm<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>, respectivamente).

Bajo las condiciones de este ensayo no hubo efecto del inóculo sobre la biomasa de plantas jóvenes ante un estrés hídrico moderado. El efecto observado en el crecimiento se debió a los niveles de humedad.

EL ESTRÉS POR DESECACION NO CONDICIONA LA TOLERANCIA DE LAS  
COMUNIDADES MICROBIANAS A GLIFOSATO

Allegrini M<sup>1</sup>, Zabaloy MC<sup>2\*</sup>, Gómez EV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Campo Exp. Villarino; Zavalla (Santa Fe) Fac. de Cs. Agrarias-Universidad Nacional de Rosario,

<sup>2</sup>Depto. Agronomía - Universidad Nacional del Sur - CERZOS CONICET. E-mail:

mzabaloy@uns.edu.ar

Los efectos indeseados de los xenobióticos en organismos no blanco constituyen una preocupación por su implicancia ambiental. El glifosato (N-fosfometilglicina) es el herbicida más utilizado a nivel mundial en la actualidad. La potencial alteración de las comunidades microbianas del suelo y sus procesos por el glifosato es de particular interés ya que el mismo actúa sobre una enzima cuya presencia es ubicua en microorganismos. Al mismo tiempo, los adyuvantes presentes en los formulados comerciales han demostrado ser aún más tóxicos que el propio glifosato. Por lo tanto, el uso intensivo del herbicida podría afectar la sustentabilidad funcional de los suelos, incluyendo la resistencia a diversos factores de estrés a los cuales están sometidos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del glifosato en la respuesta respiratoria de la comunidad microbiana ante una situación impuesta de estrés en suelos (Argiudoles vérticos de la localidad de Zavalla, Santa Fe) provenientes de dos situaciones contrastantes: un suelo con 20 años de exposición al herbicida (CH) y otro sin historia de exposición (SH). Se diseñó un ensayo de laboratorio utilizando microcosmos, los cuales fueron sometidos a la combinación factorial de 2 tratamientos: Glifosato (aplicación/ausencia) y Estrés (aplicación/ausencia). El tratamiento de "Estrés" consistió en desecación mediante circulación forzada de aire durante 24 hs a 25 °C. Para el tratamiento con "Glifosato" se utilizó Roundup Full II a una dosis de 49 µg de ingrediente activo g<sup>-1</sup> suelo. El herbicida fue aplicado 14 días antes de la imposición del estrés y el muestreo final de los microcosmos se realizó 14 días después de aplicar el estrés. Se analizó la respiración inducida por el sustrato (SIR) con 3 fuentes de carbono (fenilalanina, manosa y ácido cumárico) y la respiración basal (RB, sin sustrato) en placas sensoras de oxígeno BDOBS® (BD Biosciences, Bedford, MA, USA), incubadas a 28 °C, por 24 h en un fluorómetro de microplacas BMG FLUOstar Optima (BMG Labtech, Offenburg, Alemania). A partir de las curvas de respiración obtenidas se calcularon los cocientes respiratorios (qR= RB/SIR), los cuales se analizaron estadísticamente mediante un ANOVA de 2 factores. Los resultados obtenidos en ambos suelos (CH y SH) indicaron que no existió interacción (p>0.05) entre el factor de estrés y la aplicación del herbicida, en la respiración microbiana de cada uno de los sustratos carbonados. Los efectos del estrés y del herbicida por separado tampoco fueron significativos, excepto en el caso del suelo CH donde se observó efecto de glifosato en la respiración del ácido cumárico (p<0.05). Se concluye que ambos suelos responden de manera similar al estrés impuesto de desecación-humedecimiento (independientemente de la aplicación o ausencia del herbicida), en concordancia con un estudio previo en el cual no se observó una diferencia significativa entre ambos sitios en la tolerancia al Roundup. De esta manera, las observaciones resultaron consistentes con el concepto de "costo de tolerancia", según el cual es más probable encontrar diferencias en la susceptibilidad al estrés cuando las comunidades difieren en la tolerancia a un contaminante.

EVALUACIÓN DE HONGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFORO AISLADOS DE LA RIZÓSFERA DE LA GRAMÍNEA NATIVA *Bromus auleticus*Stefanoni Rubio PJ\*, Scambato AA, Iannone LJ, Novas MV

Laboratorio de Micología, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEyN, UBA. PROPLAME-PRHIDEB (CONICET). Email: pablostefa@bg.fcen.uba.ar

El fósforo (P) es uno de los nutrientes esenciales para las plantas. Sin embargo, en el suelo se encuentra en formas altamente insolubles y muy poco disponibles. En la rizósfera se encuentran microorganismos capaces de solubilizar P, que favorecen de esta manera la captación del mismo por parte de las plantas. La caracterización de estos microorganismos es de interés para incrementar la disponibilidad de P de manera sustentable.

Los hongos endofitos del género *Epichloë* establecen asociaciones mutualistas con algunas gramíneas C3. Estos simbiontes fúngicos pueden conferir al hospedante numerosas ventajas, tanto en su desarrollo como resistencia a factores bióticos y abióticos. Además, pueden afectar el medio donde se desarrolla el hospedante, modificando, por ejemplo, las comunidades rizosféricas. *Bromus auleticus*, gramínea nativa con aptitudes como forrajera y con una amplia distribución en la región pampeana, presenta varios ecotipos asociados a diferentes especies de *Epichloë*. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de solubilizar distintas fuentes de P por parte de hongos aislados de la rizósfera de *B. auleticus* asociado a *E. pampeana*.

Se realizó un ensayo *in vitro* utilizando 7 cepas: 4 correspondientes a *Penicillium pinophilum* (Ppi 1, Ppi 2 Ppi 3 y Ppi 4), 2 a *Talaromyces flavus* (Tf 1 y Tf 2) y 1 a *P. purpurogenum* (Ppur 1). Estas cepas fueron previamente aisladas de la rizósfera de plantas de *B. auleticus* cultivadas en suelo recolectado de un campo situado en la localidad de Rawson, Pcia. Buenos Aires (34° 42' S, 60° 04' O). La capacidad de solubilizar P de cada cepa fue evaluada en medio NBRIP líquido, utilizando dos fuentes diferentes de fosfato: fosfato de calcio tribásico (TCP) y fosfato ferroso (FF). La concentración de P soluble se midió por el método de vanadio-molibdato.

Todas las cepas solubilizaron TCP en mayor medida que FF. Las cepas que presentaron mayor solubilización fueron Ppur 1 y Tf 2, seguidas por Ppi 2, Ppi 3 y Ppi 4, mientras que Tf 1 fue la cepa que generó menor concentración de P soluble a partir de TCP. Las cepas Ppi 2, Ppi 3 y Ppi 4 fueron las que presentaron el mayor nivel de solubilización en FF, mientras que la solubilización por las cepas Ppi 1 y Ppur 1 fue imperceptible.

Dado que las cepas utilizadas fueron aisladas de plantas de *B. auleticus* asociadas a *E. pampeana* y contando con antecedentes de modulación de endofitos foliares sobre hongos rizosféricos, se postula que este modelo podría interactuar positivamente con las cepas de hongos solubilizadores de P. De este modo se favorecería la adquisición de este nutriente por parte de las plantas, incrementando su rendimiento. A partir de los resultados obtenidos se propone utilizar las cepas Ppi 2, Ppi 3 y Ppi4 en futuros ensayos ya que solubilizaron cantidades considerables de TCP, y además pudieron solubilizar FF en mayor medida que las otras cepas. Esto les daría un mayor rango de acción en suelos con baja disponibilidad de P.

## INTENSIFICACIÓN SUSTENTABLE DE LOS SISTEMAS AGRICOLAS Y COMUNIDADES FÚNGICAS DEL SUELO

Rojó R<sup>1</sup>, Lago ME<sup>2</sup>, Bacigaluppo S<sup>3</sup>, Torres JC<sup>1</sup>, Salvagiotti F<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Insumos Biológicos IMyZA INTA Castelar, <sup>2,3</sup> Fitopatología y Manejo de Cultivos EEA INTA  
Email: rojo.rodriigo@inta.gob.ar

La intensificación sustentable de la agricultura tiene como objetivo hacer un uso eficiente de los recursos naturales e insumos destinados a la producción, con mínimo impacto sobre el ambiente. Esta estrategia de manejo implica el uso de un mayor número de cultivos (sea destinados a cosecha o a cobertura) por unidad de tiempo, teniendo en cuenta la disponibilidad del recurso más limitante. El impacto de la intensificación sobre las comunidades fúngicas ha sido poco estudiado. El objetivo de este trabajo fue determinar los principales géneros fúngicos presentes en el suelo y su frecuencia, asociados con diferentes estrategias de intensificación agrícola. Las determinaciones se realizaron sobre muestras de suelo provenientes de un ensayo de larga duración en Oliveros (Santa Fe), que incluye secuencias con distintos grados de intensificación: soja-soja; soja-cultivo de cobertura (cc)-soja; maíz-soja-trigo/soja; maíz-cc-soja-trigo/soja; maíz-trigo/soja y maíz-trigo/soja-cc. Las muestras se tomaron sobre dos repeticiones en un diseño de bloques completos al azar. Se utilizó la técnica de cebos para aislar hongos no esporulantes y la de diluciones seriadas para aislar y cuantificar hongos esporulantes del suelo. En el primer caso, por cada muestra de suelo, se incubaron 25 glomérulos de acelga estériles (cebos) en 50 g de suelo por 48 horas. Luego se aislaron los hongos que colonizaron el cebo. En el segundo método, se colocaron 10 g de suelo en 200 ml de agua destilada estéril y se diluyeron 2.000, 20.000 y 200.000 veces. Por cada muestra de suelo se sembraron 5 cajas de Petri con Agar Papa Glucosado por dilución (100 µL por caja). Se realizó Análisis de la Varianza y prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Desde los cebos de acelga se obtuvieron 466 aislamientos (*Trichoderma* spp.: 61%; Mucorales: 19,5 %; *Fusarium* spp.: 15,5 %; *Rhizoctonia* spp.: 0,64 % y Otros: 3,22 %). El total de Unidades Formadoras de Colonias g<sup>-1</sup> de suelo (UFC.g<sup>-1</sup>), obtenidas por diluciones seriadas, no difirió significativamente entre tratamientos (9,2-12,8 x 10<sup>3</sup> UFC g<sup>-1</sup>). Los principales géneros o tipos fúngicos aislados por ambos métodos fueron los mismos. Por ambos métodos, el género predominante en todos los tratamientos fue *Trichoderma* spp. En los tratamientos con cultivo de cobertura se observó una menor frecuencia de aislamiento de este género. Por diluciones seriadas su porcentaje de UFC g<sup>-1</sup> osciló entre 17,4 % y 37 %. Tanto los Mucorales como *Fusarium* spp. aumentaron su frecuencia con la inclusión de un cc en la secuencia, aunque la baja frecuencia de *Fusarium* no permitió verificarlo en todas las secuencias. Estos resultados sugieren que los cultivos de cobertura y la secuencia de cultivos pueden afectar las comunidades fúngicas del suelo. Sin embargo, se requieren más estudios para confirmar esta tendencia.

## COINOCULACIÓN EN EL CULTIVO DE SOJA. EVALUACIÓN A CAMPO DE FORMULACIONES COMERCIALES.

Yacobino M<sup>1</sup>, Monteleone E<sup>1</sup>, Tropeano G<sup>1</sup>, Ferraris G<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de I+D Nitrasoil Argentina S.A., <sup>2</sup> INTA Pergamino. Email: myacobino@nitrasoil.com.ar

### Introducción

Los inoculantes son insumos biológicos desarrollados para aumentar la concentración sobre la semilla de rizobios seleccionados por su especificidad, infectividad y efectividad.

La co-inoculación es la inoculación simultánea de rizobios con otros microorganismos que suman mecanismos de acción, como la solubilización de nutrientes, el control de patógenos o la síntesis de hormonas, obteniendo de esta forma efectos aditivos a los generados por *Rhizobium*.

### Objetivos

Evaluar la respuesta a la inoculación en el cultivo de soja, y cuantificar el efecto aditivo logrado por la co-inoculación con *Azospirillum brasilense* y *Bacillus subtilis*.

### Metodología

Se realizaron dos ensayos en la localidad de Wheelwright sobre un suelo serie Hughes, de alta productividad aplicados a soja de primera. La siembra se realizó el día 22 de noviembre de 2014, con la variedad DM 4214 RR STS. Durante el ciclo se realizaron tres aplicaciones de Glifosato y una aplicación de fungicida en R4. Se aplicaron insecticidas para prevenir el ataque de oruga bolillera y chinches.

### Tratamientos

Ensayo 1: T1 (testigo sin inocular), T2 (inoculado con *Bradyrhizobium japonicum*), T3 (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum*) y T4 (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum* + *Bacillus*). Ensayo 2: T1 (testigo sin inocular), T2 (inoculado con *Bradyrhizobium japonicum*), T3 (*Bradyrhizobium japonicum* + Thiram + Carbendazim) y T4 (*Bradyrhizobium japonicum* + *Bacillus*).

Los parámetros evaluados fueron infectividad, funcionalidad, tamaño de nódulos, altura de plantas e intercepción (en V3), índice de vigor (en R4) y Rendimiento y sus componentes (R6)

### Resultados

Ensayo 1: El promedio del ensayo arrojó un rendimiento de 5346 Kg/ha abarcando un rango de 5046 a 5746 Kg/ha. El tratamiento 4 fue el que obtuvo mayor rendimiento, superando a la inoculación tradicional en 700 Kg/ha. Ensayo 2: El rendimiento promedio fue menor que en el ensayo 1 con una media de 4793 Kg/ha, y un rango entre 4463 y 5143 Kg/ha. El tratamiento 4 mostró un incremento de rendimiento sobre el testigo, de 394 Kg/Ha.

### Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten demostrar que la coinoculación del cultivo de soja con promotores de crecimiento es una alternativa eficaz para optimizar los rendimientos

Respecto al uso de biocontroladores, si bien el rendimiento máximo se obtuvo con el tratamiento de *Bradyrhizobium japonicum* + Thiram-Carbendazim (control químico), la inoculación con *Bradyrhizobium* sólo o en combinación con un antagonista como *Bacillus subtilis* determinó una tendencia positiva sobre la productividad.

## COMUNIDADES MICROBIANAS: AGRICULTURA CONTINUA VERSUS PASTIZAL NATURAL EN SUELOS DEL SUDESTE BONAERENSE

Diaz Delfino A<sup>1</sup>, Marcos Valle F<sup>1</sup>, Castellari C<sup>1</sup>, Andreoli YE<sup>1</sup>, Picone L<sup>1</sup>

1Unidad Integrada Balcarce (FCA - UNMdP – EEA Balcarce - INTA). Ruta 226 km 73,5 Balcarce (7620); 2266-439100 (776), Bs. As., Argentina. Email: andreoli.yolanda@inta.gob.ar

En las últimas décadas, en nuestro país se produjo un importante proceso de agriculturización que provocó una degradación física, química y biológica de los suelos. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto del uso agrícola sobre las poblaciones microbianas y el pH. Se obtuvieron muestras de suelo del partido de Balcarce (Bs. As.) con agricultura continua (AC) y pastizal natural (PN), de dos estratos de suelo (0-5 y 5-20 cm) y en dos épocas de muestreo (febrero y julio). Los recuentos microbianos se registraron como UFC g suelo<sup>-1</sup>. El pH se determinó por potenciometría. Se realizó ANOVA y Tukey (5%) utilizando el programa R. Para el recuento de actinomicetes, el uso del suelo, la época de muestreo y la interacción entre ambos, fueron significativos ( $p < 0,001$ ). La comparación de medias determinó diferencias significativas entre los usos del suelo (AC: 5,04 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, PN: 5,52 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>) y entre épocas de muestreo (cálida: 6,16 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, fría: 4,41 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>). Para el recuento de bacterias se detectó efecto significativo ( $p < 0,01$ ) de la época, el estrato y la interacción uso del suelo\*época de muestreo. Según el test de Tukey, los recuentos no difirieron significativamente entre los usos del suelo (AC: 6,29 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, PN: 6,18 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>), en cambio si existieron diferencias significativas entre las épocas de muestreo (cálida: 6,47 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, fría: 5,99 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>). Para el recuento fúngico se detectó efecto significativo ( $p < 0,01$ ) de los tres factores evaluados y la interacción uso del suelo\*época de muestreo. Dichos recuentos difirieron significativamente entre usos del suelo (AC: 5,29 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, PN: 4,78 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>) y entre épocas de muestreo (fría: 5,43 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>, cálida: 4,48 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>). Considerando la interacción uso del suelo\*época de muestreo, la comparación de medias evidenció diferencias significativas entre las épocas de muestreo para ambos usos del suelo en actinomicetes, para AC en bacterias y para PN en hongos. Los recuentos de bacterias y hongos resultaron significativamente mayores en el estrato superior. El 65% de los aislamientos bacterianos correspondió a Gram + y 88% a morfología bacilar (41% con endospora). Los aislamientos fúngicos identificados fueron: *Fusarium* sp., *Penicillium citrinum*, *P. funiculosum*, *P. olsonii*, *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *Eurotium* sp., *Trichoderma* sp., *Rhizopus* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Acremonium* sp. y levaduras. El 61% de los mismos correspondió al PN. *A. ochraceus* y *Eurotium* sp. sólo fueron aislados en AC mientras que *Trichoderma* sp. y *Acremonium* sp. únicamente en PN. El pH fue afectado significativamente ( $p < 0,001$ ) por el uso del suelo, siendo más ácidos los suelos bajo AC. Se concluyó que 20 años de AC provocaron una acidificación de los suelos en comparación con PN. Posiblemente, dicha acidificación afectó al grupo actinomicetes disminuyendo su recuento. Sin embargo, los hongos fueron favorecidos por suelos ácidos y aireados. El uso del suelo no influyó en el recuento de las bacterias aunque un estudio más profundo podría determinar un cambio en la composición de las poblaciones.

## CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFORO AISLADAS DE UN SUELO DE SANTIAGO DEL ESTERO

Rörig M<sup>1</sup>, Rodriguez A<sup>1</sup>, Vizgarra A<sup>2</sup>, Grasso D<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Suelos INTA Castelar, <sup>2</sup> EEA Este Santiago del Estero. Email: rorig.marcela@inta.gob.ar

En la provincia de Santiago del Estero, la intensificación de las actividades agropecuarias y el desmonte sin control han generado importantes pérdidas de la productividad del suelo. Estas razones impulsan la búsqueda de estrategias de manejo que promuevan la producción agrícola sustentable. La utilización de microorganismos con capacidad para promover el crecimiento de las plantas (PGPR) se presenta como una gran alternativa de biofertilización. Las BSP (bacterias solubilizadoras de fósforo) tienen la capacidad de solubilizar P insoluble a formas asimilables, incrementando de esta manera la disponibilidad de fósforo para las plantas. Con la finalidad de aportar conocimiento de la abundancia y diversidad de estos microorganismos en sistemas agrícolas frágiles, se realizó el aislamiento, selección y caracterización de las BSP presentes en un suelo con diferentes secuencias de cultivo. La abundancia de BSP se analizó mediante la técnica de dilución en placa en medio agar NBRIP. Los aislamientos que mostraron una eficiencia de solubilización mayor a 1.4 fueron analizados molecularmente mediante rep-PCR utilizando los oligonucleótidos BOX y ERIC. Las imágenes obtenidas fueron analizadas con ayuda del programa informático BioNumerics® (Applied Maths, Belgium). Los patrones de bandas representativos se analizaron mediante secuenciación del 16S rDNA amplificado por PCR.

La abundancia de microorganismos solubilizadores de fósforo fue similar en las parcelas estudiadas, registrándose un valor medio de  $7,5 \cdot 10^5$  UFC gss<sup>-1</sup>. Se obtuvieron 165 aislamientos con capacidad solubilizadora, de los cuales 25 resultaron capaces de solubilizar eficientemente fosfatos insolubles. El análisis de los perfiles de bandas obtenidos con BOX, reveló la presencia de 7 patrones diferentes, mientras que con ERIC se obtuvieron 8 patrones de bandas. Teniendo en cuenta la cantidad de aislamientos que presentan el mismo patrón se pudo estimar el índice de diversidad de Shannon resultando en 0,79 y 0,67 para las parcelas con soja y las parcelas con trigo/algodón respectivamente.

Las bacterias solubilizadoras dominantes pertenecen al género *Pseudomonas*, especie con un amplio potencial para incrementar la disponibilidad de fósforo. La aplicación de la técnica (rep-PCR) para evaluar la variabilidad genética presente entre los aislamientos provenientes de parcelas con diferente rotación de cultivos, demostró que el análisis con ERIC-PCR resultó ser más eficiente para agrupar los aislamientos.

EFFECTO DE UN BIOFORMULADO MIXTO SOBRE CULTIVOS HORTÍCOLAS DE HOJAS  
(*Beta vulgaris* Y *Lactuca sativa*)

Niederhauser M<sup>1</sup>, Díez O<sup>2</sup>, Lombardo D<sup>3</sup>, Bettera C<sup>4</sup>, Sosa D<sup>1</sup>, Rosas S<sup>1</sup>

<sup>1,3</sup>Dptos Biología Molecular-Microbiología e Inmunología Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales, <sup>2</sup>Facultad de Agronomía y Veterinaria, <sup>4</sup>Facultad de Ingeniería Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. Email: srosas@exa.unrc.edu.ar

A los fines de evaluar el efecto del formulado a base de *Pseudomonas* spp y *Azospirillum* spp. en aplicación individual y en co-inóculo, sobre el crecimiento y rendimiento de cultivos hortícolas de hoja, se llevaron a cabo ensayos a campo, en el cinturón verde de Río Cuarto. Acelga (*Beta vulgaris*): en parcelas completamente aleatorizadas. El ensayo se implantó en un suelo perteneciente a la zona suroeste del cinturón verde de Río Cuarto y se utilizó la variedad Nacional Bressane<sup>®</sup>. Se realizaron inoculaciones al momento de siembra y a los 15 días de haber germinado. Se utilizaron dos concentraciones ( $10^5$ ) y ( $10^7$ ). El primer muestreo se realizó en el estadio 19 del cultivo y los parámetros medidos fueron: peso fresco de raíz y parte aérea (PFR, PFPA); peso seco de raíz y parte aérea (PSR, PSPA), longitud radicular (LR), y volumen radicular (VR). El segundo muestreo se realizó a cosecha en dónde se determinó área foliar (AF) y rendimiento (expresado como Kg de materia fresca, MF). Se obtuvieron diferencias significativas en peso fresco y seco aéreo de los tratamientos individuales como del co-inóculo, siendo éste 56 % superior al control debido a mayor área foliar. Los valores de raíz fueron en todos los casos superiores al control. No hubo diferencias significativas entre una y dos inoculaciones. En cuanto a los valores de fibra total el lote tratado con el co-inóculo superó al control en un 19.6 %, lo que genera buena expectativa desde el punto de vista nutricional.

Lechuga (*Lactuca sativa*) Este trabajo de investigación se llevó a cabo en una huerta familiar con la propuesta Agroecológica del programa Pro Huerta de I.N.T.A. con la siguiente ubicación geográfica a 33°8 S y 64°O, a una altura sobre el nivel del mar de 438,62 metros de la zona noreste de la ciudad de Río Cuarto. Se utilizó lechuga *grandrapids*. La germinación se realizó en *speedling*. La emergencia del cultivo se produjo tres días posteriores a la siembra, a la semana de nacidos se hizo el raleo de los plantines más débiles quedando el de mayor vigor en cada una de las celdas, para la posterior extracción de cada plantín, poseyendo entre 3 - 4 hojas (28 días de vida) y llevados a surcos. Aparte del tratamiento con el biofertilizante mixto se realizó tratamiento con humus, respetando la práctica del horticultor. Al momento de cosecha, se determinó que el tratamiento con humus y el de biofertilizante ( $10^5$ ) presentaban un rendimiento de 80 % superior respecto al testigo en cuanto a volumen de la planta (gr) y volumen área foliar (gr), no observándose diferencias significativas entre contenido de proteína pura y fibra detergente ácido (base seca). En razón de que lechuga es de consumo directo y se suele utilizar agua de acequias, se realizaron recuento de: aerobios mesófilos viables totales y coliformes totales, *Escherichia coli*, hongos y levaduras, presencia de *Salmonella* spp., presencia de microorganismos endofíticos y Vida Útil según pérdida de peso en diferentes ambientes. No se detectaron contaminantes en hojas lavadas ni presencia como endófitos de microorganismos del biofertilizante utilizado.



## APORTE DE UN BIOFORMULADO MIXTO A LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE LEGUMINOSAS

Sosa D<sup>1</sup>, Niederhauser M<sup>1</sup>, Bettera C<sup>2</sup>, Rosas S<sup>1</sup><sup>1</sup>Departamento de Biología Molecular. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-químicas y Naturales,<sup>2</sup>Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Río Cuarto. CP: 5800. Córdoba. Argentina.

Email: srosas@exa.unrc.edu.ar

La nueva tendencia en la agricultura es el uso de consorcios microbianos que promueven el crecimiento de las leguminosas. Un bioformulado a base de *Pseudomonas* spp y *Azospirillum* spp fue ensayado a campo en maní (*Arachis hypogea*) y garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

Maní fue ensayado en Campo: Rovella Carranza - Buena Esperanza (SSWS), Pcia. de San Luis, con suelo extremadamente arenoso, prueba de modalidades de tratamiento en parcelas de 50 x 8 m (400 m<sup>2</sup>) con una replicación a una distancia de 200 m. En cada parcela se ensayó: parcela A, al momento de siembra y a los 30 días post emergencia, parcela B sólo con siembra, parcela C sólo en post emergencia, parcela D testigo.

Se verificó el apoyo efectivo de los PGPRs a la nodulación, relación 12,5:1,5 a favor del producto respecto al control con un rendimiento potencial del 35% cuando se aplicó por única vez (solo en siembra ó sólo en post emergencia) y un rendimiento potencial del 55% cuando se aplicó en siembra y en post emergencia. Los tratamientos mostraron tolerancia a estrés hídrico (febrero y marzo sin lluvia) llegando a término casi un mes antes. Rendimiento promedio 20% sobre el testigo. En garbanzo, el ensayo fue llevado a cabo en Chacra "La Perdiz", en la localidad de Olaeta, Córdoba (32°57'22.60"S-63°47'6.36"O) utilizando dos variedades de semillas de garbanzo: Chañaritos S-156 y Norteño. La variedad Chañaritos S-156 respondió mejor con las inoculaciones individuales. Al llegar a R4, los mejores resultados en los parámetros de tallo, raíz y nódulos fueron obtenidos en las plantas inoculadas con *Pseudomonas* spp., seguidos por los correspondientes a la inoculación con *Azospirillum* spp.. Sin embargo, el análisis de las vainas y el P100 fue mayor en las plantas inoculadas con *Azospirillum* spp., seguido por el de las plantas inoculadas con *Pseudomonas* spp. Finalmente, el mayor rendimiento fue obtenido en el tratamiento de inoculación con *Pseudomonas* spp., siendo un 13,1 % superior al control no co-inoculado. Por otra parte, la variedad Norteño el mayor rendimiento se registró en el tratamiento de inoculación combinada, siendo un 3,1 % superior al control.

En todos los casos, la variedad Chañaritos S-156 obtuvo mejores resultados en crecimiento y rendimiento (3280 kg ha<sup>-1</sup>) con inoculación simple de *Pseudomonas* spp, en tanto que en Norteño el mayor incremento en crecimiento y rendimiento (1790 kg ha<sup>-1</sup>) fue menos marcado y se obtuvo con la inoculación combinada.

EVALUACIÓN DE LA COINOCULACION CON *Azospirillum brasilense* SP 245 Y *Pseudomonas fluorescens* RT6M10 EN *Arabidopsis thaliana* CON ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO

Agüero FA<sup>1</sup>, Cohen AC<sup>2</sup>, Moreno D<sup>2</sup>, Bottini R<sup>2</sup>, Silva MF<sup>2</sup>, Piccoli P<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Exactas, UNCuyo, <sup>2</sup>Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo-CONICET, Almirante Brown 500, M5528AHB, Chacras de Coria, Mendoza, Argentina. Email:acohen@fca.uncu.edu.ar

*Azospirillum* sp. y *Pseudomonas* sp. son géneros muy estudiados entre las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y son una alternativa sustentable en el manejo de los agroecosistemas. Ambos géneros poseen una gran variedad de mecanismos por los cuales pueden afectar el crecimiento de las plantas, como la fijación biológica de nitrógeno, reducción de nitrato, solubilización de fosfatos, producción de sideróforos (biocontrol) y producción de reguladores del crecimiento (PGR). Sin embargo, el efecto promotor del crecimiento se atribuye principalmente a la producción de éstos PGRs. En un trabajo previo, se aisló *P. fluorescens* Rt6M10 de rizósfera y raíces de plantas de vid. Esta bacteriacoloniza raíces de vid, cv. Malbec cultivadas *in vitro* y reduce la pérdidas de agua. Mas recientemente demostramos que *A. brasilense* Sp 245 atenúa los efectos negativos de la sequía en plantas de *A. thaliana*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación con *A. brasilense* Sp 245 y *P. fluorescens* Rt6M10, y de la coinoculación de ambas cepas en plantas de arabidopsis sometidas a condiciones de estrés hídrico y salino.

Semillas Col-0 se desinfectaron y sembraron en macetas y se colocaron en bandejas en cámara de crecimiento con un fotoperíodo de 12/12 h y una intensidad lumínica de 100  $\mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$  a 22  $\pm$ 2° C. Las plantas se regaron cada 2 días y cuando presentaron las dos hojas verdaderas expandidas se inocularon con: *A. brasilense* Sp 245 (Sp 245); *P. fluorescens* Rt6M10 (Rt6M10); *P. fluorescens* Rt6M10 + *A. brasilense* Sp 245 (Sp 245+Rt6M10) o con buffer (Control, 4). Posteriormente se dividieron cada uno de los tratamientos en tres: A) Sin estrés (las plantas se regaron con agua y mantuvieron en capacidad de campo), B) Estrés hídrico (suspendiendo el riego hasta que las plantas entraran en marchitez y luego se volvían a regar) y C) Estrés salino (regando con NaCl 100 mM). A los 60 días se determinó área foliar, peso seco de la parte aérea, pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores, contenido relativo de agua, diámetro de la vara floral y producción de semillas. Además se determinó el contenido de azúcares por electroforesis capilar.

Sp 245, Rt6M10 y la coinoculación (Sp 245+Rt6M10) incrementaron los diferentes parámetros de crecimiento determinados en plantas sin estrés. Sp 245 atenuó los efectos del estrés hídrico, y Rt6M10 disminuyó los efectos negativos del estrés salino; mientras que la coinoculación redujo los efectos negativos del estrés hídrico y salino. Asimismo, los niveles de maltosa, producto de la hidrólisis del almidón, se incrementaron con los tres tratamientos de inoculación en donde además se determinó sacarosa, mientras que no se detectó en el control. Por lo que proponemos que la coinoculación con Sp 245+Rt6M10 es una alternativa ecológica y sustentable que no sólo incrementa el crecimiento y producción en plantas cultivadas sin estrés, sino que acentúa el efecto benéfico en situaciones de estrés hídrico y salino.

COINOCULACIÓN CON *Azospirillum brasilense* SP 245 Y *Pseudomonas fluorescens* RT6M10 EN TOMATE (VAR. MICRO-TOM) PARA MITIGAR CONTAMINACIÓN AMBIENTAL Y REDUCIR GASTOS DE PRODUCCIÓN

Cohen AC, Salomon MV, Bottini R, Piccoli P

Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo-CONICET.  
Almirante Brown 500, M5528AHB, Chacras de Coria, Mendoza, Argentina. Email:  
acohen@fca.uncu.edu.ar

El tomate es la hortaliza más cultivada en todo el mundo y la de mayor valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. Dentro del sector hortícola, el cultivo de tomate es el de mayor relevancia en nuestro país. Mendoza tiene la mayor superficie regada de Argentina y es la principal provincia productora de tomate para industria seguida por San Juan. Los elementos nutritivos que la planta necesita se incorporan como fertilizantes y se transportan con el flujo de agua en los sistemas de riego complementando con los que le proporciona el suelo. Por otro lado, existe un grupo de rizobacterias benéficas que promueven el desarrollo del vegetal (PGPR). *Azospirillum* sp. y *Pseudomonas* sp son dos géneros muy estudiados entre las PGPR. El efecto promotor del crecimiento se atribuye principalmente a la producción de reguladores del crecimiento. Estos dos géneros se utilizan como bioinoculantes porque benefician la nutrición y el crecimiento de las plantas. La sustitución progresiva de agroquímicos por biofertilizantes puede sin duda contribuir a mitigar la contaminación del medioambiente sin reducir el rendimiento de los cultivos, disminuyendo los costos de producción. En un trabajo previo realizado en el grupo de trabajo se aisló *Pseudomonas fluorescens* Rt6M10 de rizósfera y raíces de plantas de vid ubicadas en un viñedo comercial. *P. fluorescens* Rt6M10 coloniza raíces de vid (*Vitis vinifera* cv. Malbec) cultivadas *in vitro* y reduce la pérdidas de agua en correlación con incrementos en los niveles de ABA. Por otra parte, *A. brasilense* Sp 245 atenúa los efectos negativos de la sequía en plantas de *A. thaliana*.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la coinoculación con *A. brasilense* Sp 245 + *P. fluorescens* Rt6M10 en plantas de tomate var. Micro-Tom para reducir el uso de fertilizantes.

Semillas de tomate se desinfectaron y sembraron en almácigos que se colocaron en cámara de crecimiento con fotoperíodo 12/12 h y con una intensidad lumínica de  $100 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$  a  $24 \pm 2^\circ \text{C}$ . Las plantas se regaron en las bandejas y a los 15 días desde la siembra, se inocularon con *A. brasilense* Sp 245 + *P. fluorescens*. A los 15 días, se trasplantaron a macetas plásticas con una mezcla de perlita:turba y se regaron cada 2 días. Posteriormente, a los 60 días desde la siembra se determinó área foliar, peso seco de la parte aérea, eficiencia fotosintética, contenido relativo de agua, número de flores y al final de la experiencia número de frutos por planta.

La coinoculación incrementó el crecimiento vegetativo (área foliar), reproductivo (número de flores y frutos) y parámetros fisiológicos (peso seco de la parte aérea y eficiencia fotosintética). El consorcio fue efectivo y constituye una alternativa ecológica y sustentable para disminuir el uso de fertilizantes para disminuir tanto el impacto ambiental como el costo de de producción.

EFFECTOS DE INOCULACIONES SIMPLES Y MIXTAS CON BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EN PLANTAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) Y SU SUPERVIVENCIA EN ENSAYOS EN MICROCOSMO

Anzuay MS, Ruiz Ciancio MG, Angelini JG, Taurian T

UNRC, Argentina. Email: manzuay@exa.unrc.edu.ar

Argentina se encuentra entre los principales productores y exportadores mundiales de maíz. Sin embargo, los suelos agrícolas de Córdoba presentan bajos niveles de fósforo (P) disponible para las plantas. Una alternativa al uso de fertilizantes químicos fosforados es el empleo de bacterias solubilizadoras de P. El objetivo del presente estudio fue analizar el efecto de inoculaciones con bacterias solubilizadoras de fósforo sobre el crecimiento de plantas de maíz y su supervivencia en ensayos en microcosmo. Plántulas de maíz colocadas en macetas con vermiculita y arena estéril fueron inoculadas con bacterias solubilizadoras de P: *Pantoea* sp.J49, *Serratia* sp. S119, *Serratia* sp. J260, *Acinetobacter* sp. L176, *Bacillus* sp. L55 y *Enterococcus* sp.L191 y una cepa comercial empleada para maíz denominada *Pseudomonas fluorescens* PMT1. Fueron realizadas inoculaciones simples de cada una de éstas bacterias e inoculaciones mixtas (dobles y triples) en una proporción 1:1. Como controles se emplearon plantas sin inocular fertilizadas con P (C+) y plantas sin fertilizar y sin inocular (C-). Las plantas fueron cosechadas a los 21 días postinoculación y se determinó longitud y biomasa aérea y radical y contenido de P en planta y soporte. Fue determinado al momento de la cosecha la supervivencia de las bacterias inoculadas en el soporte y se confirmó mediante rep-PCR.

Fue posible observar una mayor promoción del crecimiento en las plantas de maíz tratadas con inoculaciones simples respecto a aquellas tratadas con inoculaciones mixtas. Las plantas inoculadas con la bacteria *Serratia* sp. J260 mostraron incrementos significativos en todos los parámetros analizados respecto al C-. Las inoculaciones mixtas con esta bacteria no produjeron aumentos significativos en los parámetros de crecimiento vegetal. La inoculación con *Pantoea* sp. J49:*Serratia* sp. S119 produjo incrementos en todos los parámetros de crecimiento vegetal, a excepción de la longitud radical, siendo mayores al 25% respecto al C- en la biomasa vegetal. Todos los tratamientos presentaron incrementos mayores al 50% en el contenido de P aéreo y/o radical respecto al C-. Por otro lado, el contenido de P del soporte presentó incrementos mayores al 45% en los tratamientos con *Acinetobacter* sp. L176, *Serratia* sp. J260 y *Serratia* sp. S119. El análisis de supervivencia indicó que las mismas se encontraban viables al finalizar el ensayo en un número mayor a  $10^2$  UFC/ml. Es posible concluir que estas bacterias, en inóculos simples como mixtos, contribuyen a incrementar la disponibilidad de P en el suelo, permitiendo que el mismo se incorpore a los tejidos vegetales y/o incremente el crecimiento de plantas de maíz.

Financiado por SCyT-UNRC, CONICET.

AISLAMIENTO Y RESÍNTESIS DE ENDÓFITOS SEPTADOS OSCUROS DISPERSADOS EN HECES DE *Ctenomys knigthi* (RODENTIA)Miranda V<sup>1</sup>, Carrasco F<sup>2</sup>, Fracchia S<sup>1</sup><sup>1</sup>CRILAR-CONICET, <sup>2</sup>INTA EEA Catamarca. Email: carrasco.franca@inta.gov.ar

El ecosistema del Desierto del Monte en Argentina es el hábitat natural de varias especies de roedores subterráneos del género *Ctenomys*. La dieta de estos roedores incluye raíces de especies autóctonas del Monte, las cuales están colonizadas por distintos tipos de hongos endófitos como Glomeromycetes y Ascomycetes. En el análisis de la materia fecal de una especie de este género se encontraron fragmentos de raíces colonizados por estos hongos endófitos, en mayor proporción por parte de endófitos septados oscuros (ESO), que permanecieron viables y con capacidad de infectar nuevas raíces de plantas hospedantes. Si bien el rol de los hongos Glomeromycota está bien estudiado en los distintos biomas, el grupo de los ESO plantea aún muchos interrogantes, ya que es un grupo polifilético con una gran diversidad taxonómica y por ende una diversidad funcional respecto al efecto como hongos endófitos sobre el vegetal. Se ha planteado en distintas investigaciones el potencial efecto mitigador de cepas de este grupo, asociadas al estrés hídrico, nutricional, térmico, etc. El conocimiento de las funciones biológicas y ecológicas de los ESO y particularmente de los efectos que tienen estos hongos en las plantas del desierto es muy escaso. El objetivo de este trabajo se centra en el aislamiento de cepas de endófitos septados oscuros presentes en heces de *Ctenomys knigthi*, su resíntesis en especies autóctonas para caracterizar la colonización de las raíces, conocer la identidad taxonómica de los aislamientos y discutir el rol de estos hongos en el ambiente desértico del Monte. Metodología: Las muestras de heces de *Ctenomys* (28 en total) se obtuvieron por trapeo de individuos y posterior recolección de heces o por tamizado de tierra de cuevas activas del roedor. Para el aislamiento de hongos endófitos, se utilizó un sistema de plantas trampa, donde se inoculan las heces en condiciones axénicas. A las 5-6 semanas se extraen las raíces y se procede al aislamiento de estos hongos utilizando medios agarizados específicos a partir de fragmentos seccionados y esterilizados superficialmente. Las cepas fúngicas aisladas son conservadas en un banco de germoplasma. La resíntesis se realizó en macetas de 300ml, con arena esterilizada en autoclave dos veces. Para la inoculación de los hongos se utilizaron cultivos puros en caja de petri, los cuales fueron agregados en secciones de agar con micelio a las macetas y mezclados con el sustrato estéril. Como hospedantes se usaron las especies nativas *Acacia aroma* y *Tagetes minuta*. Se esterilizaron superficialmente las semillas con hipoclorito de sodio al 10%, y se sembraron en las macetas. Las plantas se colocaron en un invernadero en condiciones de luz y temperatura adecuada y al cabo de unos 30-45 días, se extrajo la raíz y se realizó una tinción dual para la caracterización de la colonización radical. Resultados: Se aislaron 121 cepas de endófitos con los siguientes porcentajes: 20% pertenecen al género *Penicillium*, 7.5% a *Fusarium*, 6.6% a *Aspergillus*, 9.1% a *Trichoderma*, 3.3% pertenecen a *Cylindrocarpom*, 5% a *Alternaria*, 12.1% fueron cepas no identificadas (micelio estéril) y 36.4% fueron cepas de endófitos septados oscuros. De este 36.4% de ESO, se identificaron morfológicamente 28 cepas de hongos pertenecientes al género *Zopfiella* (Sordariales-Lasiochaetaceae). En cuanto a la resíntesis, de las 22 cepas del género *Zopfiella* que se probaron, el 41% de estas son endófitas y colonizaron abundantemente las raíces de *A. aroma*, mientras que el 64% de estas cepas colonizaron plantas de *T. minuta*. Actualmente se está llevando a cabo su identificación molecular y se está evaluando las capacidades de estos ESO como potenciales mitigadores de condiciones de estrés en plántulas de especies nativas.

INCLUSION DE AVENA AL MONOCULTIVO DE SOJA:  
ALTERNATIVA PRODUCTIVA Y SUSTENTABLE PARA LA BIOTA EDÁFICA

Mondino EA1, Commatteo JG2, Martinez JP1, Barbieri PA1,3, Consolo VF4, Sainz Rozas HR1,2,3, Covacevich F1,4

1EEA INTA Balcarce, 2FCEyN, FCA-UNMdP, 3CONICET (4INBIOTEC-FIBA)

Email: covacevich.fernanda@inta.gob.ar

La reducción en el contenido de materia orgánica (MO) y fertilidad del suelo asociado al monocultivo de soja extendido en la región pampeana en los últimos 10 años ha atentado contra la abundancia y biodiversidad de microorganismos del suelo que cumplen roles en el ciclado de nutrientes y productividad vegetal. La inclusión del cultivo de avena como cultivo de cobertura (CC) y en sistemas de rotaciones se plantean como alternativas promisorias, aunque se desconoce su impacto sobre representantes de la microbiota edáfica que cumplen roles en la calidad del suelo. Entre ellos, los nematodos, que cumplen roles variados de acuerdo a sus preferencias alimenticias siendo algunos fitoparásitos mientras que otros intervienen indirectamente en el ciclado de la MO y consecuentemente en la liberación de nutrientes del suelo (bacteriófagos y fungívoros). Juntamente con los nemátodos, los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) y los *Trichoderma*, que se asocian a las raíces de las plantas, son promotores de crecimiento vegetal, controladores biológicos e intervienen en el ciclado de nutrientes del suelo, podrían ser considerados indicadores biológicos de alternativas de manejo al monocultivo de soja. Nuestro objetivo fue evaluar cambios en la estructura trófica de la nematofauna edáfica así como evaluar la presencia y abundancia de HMA y *Trichoderma* nativos en sistemas agrícolas de inclusión de avena como CC y rotaciones, como alternativa al monocultivo de soja del sudeste Bonaerense. Se colectaron muestras de suelo (8 submuestras por parcela, 15 cm profundidad) en el mes de mayo en parcelas (en tres bloques) con: monocultivo de soja continuo; inclusión de avena como CC; inclusión de avena en un sistema de rotaciones (trigo, maíz, soja); en un ensayo a campo de media duración (10 años; EEA-INTA-Balcarce) manejado de manera tradicional. Se obtuvo una abundancia de 274-330 nematodos/100 g suelo, no detectándose diferencias entre tratamientos. Los bacteriófagos, seguidos por los fitófagos fueron los grupos mayoritarios en el monocultivo de soja y en las parcelas con avena como CC. Sin embargo, en el sistema de rotaciones los fitófagos superaron en un 20% a los bacteriófagos. La relación fungívoros/bacteriófagos fue en general baja; aun así, en el sistema de rotaciones duplicó a la determinada en el monocultivo de soja, lo que indicaría mayor estabilidad en la degradación en estos sistemas. Por el contrario, la relación fungívoros x bacteriófagos/fitófagos fue menor en el sistema de rotaciones, indicando elevada abundancia de parásitos de raíces, probablemente favorecidos por la mayor diversidad de cultivos (hospedadores) en los sistemas de rotaciones. La abundancia de esporas de HMA se mantuvo en el rango 133-280 esporas HMA/100 g suelo y en los sistemas de inclusión de avena duplicó a la determinada en el monocultivo de soja. Se registro la presencia de colonias de *Trichoderma*, sin diferencias en abundancia entre los tres tratamientos siendo la única especie identificada *T. harzianum*. El rendimiento (obtenido en la campaña anterior) en los sistemas de inclusión de avena siempre superó al del monocultivo de soja (40% en inclusión de avena en rotaciones y 28% en inclusión de avena como CC). Este estudio evidenciaría que la inclusión de avena como CC o en rotaciones serían alternativas al monocultivo de soja tendientes a favorecer la diversidad y abundancia de representantes de la biota edáfica quienes podrían contribuir a la calidad del suelo, productividad y sanidad de los cultivos.

EMISIÓN DE GASES INVERNADERO EN LA INTERACCIÓN *Bradyrhizobium*-SOJAObando M<sup>1</sup>, Rivera D<sup>1</sup>, Bedmar E<sup>2</sup>, Cassán F<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina, <sup>2</sup>Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Granada, España. Email: fcassan@exa.unrc.edu.ar

El óxido nítrico (NO) y el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) son gases de efecto invernadero que intervienen en el calentamiento global. La aplicación de fertilizantes nitrogenados en suelos agrícolas contribuye a incrementar la emisión de estos gases, que se originan durante la nitrificación y sobre todo la desnitrificación. Argentina es el tercer país productor de soja a nivel mundial y la inoculación de esta leguminosa con *Bradyrhizobium japonicum* cepa E109, es una práctica muy extendida en nuestro país desde hace más de 40 años. Se ha reportado que los rizobios no son verdaderos denitrificantes, por lo que si se consideran las vastas extensiones de terreno, la soja podría convertirse en una de las principales fuentes de emisión de gases del efecto invernadero. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad desnitrificante de *B. japonicum* E109 y su emisión de NO y N<sub>2</sub>O en condiciones de *vida libre* y en asociación simbiótica con soja. Como primer avance, se realizó un análisis bioinformático en el genoma de E109 para determinar la presencia de los genes de la desnitrificación (*napA*, *nirK*, *norC* y *nosZ*) y luego se confirmó su presencia mediante el uso de herramientas moleculares. Así mismo, se comprobó la expresión de *nirK* y *norC* a través de la actividad de las enzimas nitrato y nitrito reductasa (NR y NiR). La producción de NO en células bacterianas de *vida libre* se determinó amperométricamente cuantificando la reducción de nitrito. La emisión de N<sub>2</sub>O *in vitro* se determinó mediante cromatografía de gases en cultivos bacterianos (*in vitro*) y a partir de raíces y nódulos de plantas de soja inoculadas (*in vivo*) en sistemas hidropónicos de jarras de Leonard. Los resultados permitieron identificar la presencia de *norC* y la ausencia de *nosZ*. Así mismo, se cuantificó actividad enzimática NR y NiR, verificando la presencia de *nirK* y *norC*. A nivel *in vitro*, la producción de NO fue mayor para la cepa GRC131 (mutante de USDA110 para el gen *norC*), evidenciando la capacidad de reducir este gas; mientras que las cepas GRZ3035 (mutante de USDA110 para el gen *nosZ*) y E109 presentaron valores similares de producción (311,37 y 281,42 nmol/mg.prot.hora<sup>-1</sup>) que superaron la cantidad de NO acumulada por la cepa salvaje USDA110 (24,08 nmol/mg.prot.hora<sup>-1</sup>). Por otro lado, durante la simbiosis, las curvas de producción de N<sub>2</sub>O en raíces inoculados con E109 y GRC131 fueron similares, con emisiones máximas de 5,53E+03 nmoles/ml.h<sup>-1</sup> y 6,58E+02 nmoles/ml.h<sup>-1</sup> respectivamente. Ambas cepas duplicaron la cantidad de N<sub>2</sub>O producido por la cepa de referencia (USDA110). Para el caso de los nódulos, GRC131 produjo, en su punto máximo 9,86E+02 y E109 6,77E+02 nmoles/ml.h<sup>-1</sup> y nuevamente USDA 110 reportó el valor más bajo con 4,04E+01 nmoles/ml.h<sup>-1</sup>. Estos resultados permiten inferir que la cepa E109 de *B. japonicum* lleva a cabo el proceso de desnitrificación de manera parcial o incompleta, y en consecuencia, libera gases de tipo NO<sub>x</sub> como productos intermedios de este proceso respiratorio.

CANCRO BACTERIANO DEL TOMATE: ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE  
*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

Wassermann E<sup>1</sup>, Montecchia MS<sup>1</sup>, Correa OS<sup>1</sup>, Romero AM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología Agrícola y Ambiental, FAUBA e INBA (CONICET/UBA), <sup>2</sup>Cátedra de Fitopatología, FAUBA. Email: wasserma@agro.uba.ar

*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* es el agente causal del cancro bacteriano del tomate, la hortaliza de consumo fresco más importante de la Argentina. A pesar de la importancia de esta enfermedad en la producción de tomate, hay poca información sobre las cepas presentes en el país de este patógeno. Rep-PCR (*repetitive sequence-based PCR*) ha sido el método más utilizado para caracterizar e investigar la epidemiología de poblaciones de *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* a nivel internacional. Esta técnica de *fingerprinting* genómico ha permitido diferenciar cuatro grupos entre las cepas de este patógeno, definidos en base a los perfiles obtenidos. El objetivo de este trabajo fue analizar la diversidad y estructura poblacional mediante rep-PCR de una colección de cepas del patógeno aisladas en años diferentes en la zona productora de tomate bajo cubierta del cinturón verde Buenos Aires-La Plata. Los aislamientos se realizaron en medio YDC (*Yeast Dextrose Carbonate*) a partir de plantas enfermas, y fueron caracterizados mediante morfología de colonia, tinción de Gram, y amplificación de la región intergénica 16S-23S del rDNA utilizando cebadores específicos para *C. michiganensis* subsp. *Michiganensis*. La patogenicidad de los aislamientos se verificó mediante la prueba de hipersensibilidad en *Mirabilis jalapa*. La colección de cepas aisladas y la cepa de referencia NCPPB382 se caracterizaron por rep-PCR utilizando distintos sets de cebadores: REP, ERIC, BOXA y (GTG)<sub>5</sub>. Los perfiles genéticos obtenidos con cada set de cebadores se compararon utilizando el coeficiente de correlación de Pearson (*r*) y UPGMA. El análisis de agrupamiento de los perfiles de REP-, ERIC-, BOX- y (GTG)<sub>5</sub>- PCR permitió diferenciar tres grupos entre las cepas aisladas en todos los casos: el grupo I constituido por siete cepas, el grupo II por cuatro y el grupo III por solo una cepa. No se observó relación entre los agrupamientos de rep-PCR y el año o lugar de aislamiento, y tampoco con la agresividad ya que cepas con perfiles genéticos casi idénticos mostraron diferencias en su agresividad (grupo I). La caracterización genotípica por BOX-PCR, el método más frecuentemente utilizado para la tipificación molecular de este patógeno, evidenció una alta homogeneidad ( $r > 80\%$ ) entre las cepas de Buenos Aires, y una similitud  $< 55\%$  con la cepa NCPPB382. Los resultados obtenidos sugieren que la introducción del patógeno en los invernaderos analizados ocurrió probablemente a partir de semillas o plantines contaminados, formas conocidas de dispersión del patógeno.

Financiamiento: UBACyT 20020130100501BA



## ANÁLISIS DE ACTIVIDADES PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE RIZÓSFERA DE *Mentha x piperita* L.

Santoro VM, Cappellari LR, Giordano WF, Banchio E

Dpto. Biología Molecular, F.C.E.F-Q.yN., Universidad Nacional de Río Cuarto, Campus Universitario, 5800 Río Cuarto, Argentina. Email: erikabanchio@yahoo.com.ar

**Introducción:** El grupo de *Pseudomonas* fluorescentes es conocido por su actividad promotora natural del crecimiento vegetal (PGPR, del inglés, *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). *P. fluorescens* es una de las especies de éste género mayormente reconocidas por este tipo de actividad. Actualmente, no se encuentran trabajos que reporten sobre aislamientos de cepas nativas a partir de suelo rizosférico de plantas aromáticas. *Mentha piperita* (Lamiaceae) es una planta aromática modelo cultivada por el valor de sus aceites esenciales, los cuales son empleados por las industrias cosmética, alimenticia y farmacéutica. Mecanismos PGPR que mejoren la asimilación de minerales del suelo y la salud de los cultivos podrían ser utilizados para incrementar la producción de sus aceites esenciales.

**Objetivos:** El objetivo de este estudio fue aislar y determinar actividades PGPR de cepas *Pseudomonas* fluorescentes nativas presentes en rizósfera de *Mentha piperita*.

**Materiales y Métodos:** Se aisló una colección de cepas fluorescentes de rizósfera de una plantación comercial de mentade la región de Villa Dolores, Córdoba. A ésta se sumó *P. fluorescens* WCS417r como cepas de referencia en los sucesivos análisis. Se caracterizaron las siguientes actividades PGPR: producción de sideróforos, a través de la metodología descrita por Milagres y colaboradores (1999); solubilización de fosfato; siguiendo la metodología descrita por Naik y colaboradores (2008); producción de AIA (ácido indolacético), según la metodología descrita por Bric y colaboradores (1991) y finalmente, la actividad de biocontrol mediada por compuestos orgánicos volátiles microbianos (mVOCs, del inglés *microbial Volatile Organic Compounds*) mediante la metodología descrita por Fernando y colaboradores (2005), utilizando como hongo fitopatógeno *Alternaria alternata* RC21 (Oviedo y col., 2009). Las pruebas fueron realizadas por duplicado con 3 repeticiones por cada uno.

**Resultados:** Se obtuvo una colección de 40 cepas nativas pertenecientes al fenotipo característico de *P. fluorescens*. En el análisis de las actividades PGPR se obtuvieron resultados diversos. El 80% de los aislamientos presentó el fenotipo solubilizador de fosfato, el 25% el fenotipo productor de sideróforos y el 37,5% el fenotipo productor de AIA.

En cuanto a los efectos generados por la exposición de inóculos de *A. alternata* RC21 a mVOCs producidos, se observó que el crecimiento vegetativo fúngico presentó una disminución de hasta un 70% de diámetro en relación al control (p 0,05), sólo en algunas de las cepas evaluadas.

**Conclusiones:** Los mecanismos analizados podrían mejorar el estatus nutricional de plantas de *M. piperita* cuando se encuentran en contacto directo con rizobacterias nativas, como ocurre en el hábitat natural. Además, la producción de mVOCs puede producir un efecto biocontrolador mejorando la salud de los cultivos. Por lo tanto, la combinación de varios de estos mecanismos en una planta aromática huésped inoculada podría ser utilizadas como estrategia para mejorar el rendimiento de los aceites esenciales de interés.

## INCREMENTO EN LA EMISIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (VOCs) Y LA PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN *Mentha x piperita* L, COMO UNA RESPUESTA A LA INOCULACIÓN CON RIZOBACTERIAS

Cappellari LR, Santoro VM, Giordano WF, Banchio E

Dpto. Biología Molecular, F.C.E.F-Q.yN., Universidad Nacional de Río Cuarto, Campus Universitario, 5800 Río Cuarto, Argentina. Email: erikabanchio@yahoo.com.ar

**Introducción:** *Menthapiperita* (Lamiaceae) es una planta aromática cultivada por sus metabolitos secundarios, los cuales son empleados por las industrias cosmética, alimenticia y farmacéutica. Los VOCs (del inglés, *Volatile Organic Compounds*) vegetales son aquellos metabolitos que las plantas liberan al entorno. Los mismos poseen diversas funciones ecológicas y de defensa. Los compuestos fenólicos, son una amplia clase de metabolitos secundarios, de importancia tanto en la morfología como en la fisiología vegetal. Las PGPR (del inglés, *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) son bacterias benéficas del suelo que juegan un rol significativo en promover el crecimiento y desarrollo vegetal. Las mismas poseen la capacidad de inducir mecanismos de defensa en el huésped.

**Objetivos:** El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación y co-inoculación de cepas PGPR sobre la emisión de VOCs y la producción de compuestos fenólicos en *M. piperita*.

**Materiales y Métodos:** Tallos jóvenes de plantas de *M. piperita* procedentes del Valle de Traslasierras (Córdoba, Argentina), fueron transferidos a tubos de ensayos conteniendo agua destilada estéril y hormona para enraizar (ácido naftalén acético). Las plántulas fueron trasplantadas a macetas plásticas conteniendo vermiculita estéril. Después de 7 días fueron inoculadas con las cepas PGPR *Bacillus subtilis* GB03, *Pseudomonas fluorescens* WCS417r, *P. putida* SJ04 y co-inoculadas con las combinaciones *P. fluorescens* WCS417r + *P. putida* SJ04 y *B. subtilis* GB03 + *P. putida* SJ04. 30 días después de la inoculación se recolectaron los VOCs emitidos; el material recolectado fue analizado por GC. El contenido de fenoles totales se determinó, a través de la técnica del Reactivo Folin-Ciocalteu, en hojas y raíces de *M. piperita*.

**Resultados:** La emisión (ng emitidos/hs x g de peso fresco) de VOCs fue mayor en plantas de *M. piperita* tratadas con microorganismos ( $p < 0.05$ ). La co-inoculación de WCS417r y SJ04 triplicó la emisión de VOCs totales. Las plantas tratadas con la combinación GB03 + SJ04 e inoculadas con las cepas WCS417r, SJ04 o GBO3 presentaron la misma tendencia; incrementándose la emisión de VOCs, 2 veces en comparación a plantas control. La emisión de los monoterpenos mentona, mentol y pulegona fue superior en plantas tratadas con cepas PGPR, que en plantas control ( $p < 0.05$ ).

La concentración de compuestos fenólicos en hoja fue superior en plantas tratadas con microorganismos ( $p < 0.05$ ). La mayor concentración de fenoles totales fue observada en plantas inoculadas con WCS417r o SJ04; siendo dos veces mayor que la registrada para plantas control ( $p < 0.05$ ). Las plantas co-inoculadas como las tratadas con GB03 mostraron un incremento aproximado del 70%. El contenido de compuestos fenólicos en raíz no fue afectado por el tratamiento con rizobacterias ( $p > 0.05$ ).

**Conclusiones:** La inoculación y co-inoculación de rizobacterias incrementó la emisión total de monoterpenos e indujo un aumento en la emisión de mentona, mentol y pulegona. A su vez provocó un aumento del contenido de fenoles totales en la parte aérea de la planta. Lo expuesto podría considerarse una respuesta de defensa de la planta frente al tratamiento con cepas PGPR.

## ROL DE MOLÉCULAS SUPERFICIALES EN LAS INTERACCIONES CELULARES

DE *Ensifer meliloti*Bogino P<sup>1</sup>, Sorroche F<sup>1</sup>, Nievas F<sup>1</sup>, Zorreguieta A<sup>2</sup>, Giordano W<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Molecular, Facultad de Cs Exactas, Fco-Qcas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina, <sup>2</sup>Fundación Instituto Leloir. IIBBA, CONICET y FCEyN, Universidad de Buenos Aires, Patricias Argentinas 435, Argentina. Email: nievas@exa.unrc.edu.ar

Las moléculas superficiales bacterianas son cruciales en procesos de adhesión y colonización de superficies, como así también en procesos de interacción con organismos superiores tales como para el establecimiento de la simbiosis rizobio leguminosa.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el rol del LPS y del EPS tipo II de *Ensifer meliloti* en procesos de interacción célula-célula, célula-soporte y célula-raíces de alfalfa.

Se utilizó la cepa silvestre de *E. meliloti* Rm8530 y cepas mutantes en LPS y EPS II (Rm8530 *lpsB*, Rm8530 *expA* y Rm8530 *expA lpsB*). Se evaluó capacidad para formar biofilm sobre soporte de poliestireno mediante tinción con cristal violeta. La morfología del biofilm fue evaluada por microscopía confocal láser en las variantes fluorescentes de las cepas Rm8530 y Rm8530 *lpsB*. Las interacciones celulares fueron determinadas por microscopía de fluorescencia y microscopía de fuerza atómica. El porcentaje de autoagregación se obtuvo mediante relación de las DO iniciales y finales de cultivos en fase exponencial tardía después de incubarlos durante 24 hs a 4°C. Los ensayos de adhesión a raíces de alfalfa fueron realizados por incubación de suspensiones bacterianas con las raíces, recuentos y cálculos del porcentaje de adhesión. La movilidad por *swimming* fue realizada en medio TY reducido conteniendo 0,3% de agar.

La cepa deficiente en la síntesis de EPS II fue incapaz de formar biofilm, mientras que la mutante defectiva en el LPS conservó esta capacidad aunque de manera reducida comparada a la cepa silvestre, marcando la dependencia de la presencia de EPS II para la formación de biofilm en cepas de *E. meliloti*. La estructura del biofilm de Rm8530 estuvo organizada en arreglos celulares definidos por interacciones laterales de células, mientras que dichas estructuras no se conservaron para la cepa Rm8530 *lpsB* en cuyo caso estas interacciones fueron de tipo polares, indicando que esta mutación altera el modo a través del cual ocurren las interacciones célula-célula en *E. meliloti*. Fue determinado un elevado porcentaje de autoagregación de la cepa silvestre y de la mutante en LPS, un porcentaje intermedio de la doble mutante y un reducido porcentaje de la mutante en EPS, indicando que posiblemente el LPS mutado conserva propiedades adhesivas, las cuales serían estabilizadas en presencia de EPS II. La capacidad de adsorción a raíces de alfalfa estuvo incrementada en las cepas mutantes en LPS, mientras que los ensayos de *swimming* revelaron que tales cepas mostraron una reducción de la movilidad.

La mutación en el gen *lpsB* conduciría a la síntesis de un LPS defectivo, permitiendo que la bacteria mutante posea diferentes arreglos de interacciones celulares y mayor capacidad de adhesión tanto sobre superficies abióticas como bióticas. En cualquier contexto (LPS intacto o defectivo), EPS II sería un factor clave para el desarrollo de los procesos de formación de biofilm y autoagregación de *E. meliloti*.

## REDUCCIÓN DEL IMPACTO NEGATIVO DE LA SEQUÍA EN PLANTAS DE MAÍZ Y LECHUGA CULTIVADAS EN INVERNÁCULO MEDIANTE COMBINACIONES DE PRODUCTOS MICROBIANOS

Armada E<sup>1</sup>, García de Salamone IE<sup>2</sup>, Azcón R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos, Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Profesor Albareda 1, 18008 Granada, España, <sup>2</sup>Facultad de Agronomía, UBA, Av. San Martín 4453 C.P. 1417 CABA, Argentina. Email: igarcia@agro.uba.ar

El crecimiento vegetal es severamente restringido en condiciones de estrés hídrico. Por eso, su ocurrencia es uno de los factores ambientales adversos que más marcadamente reduce la productividad agrícola. Es posible mejorar las condiciones de crecimiento, nutricionales y de estrés mediante la aplicación de productos microbianos tales como hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) tales como *Azospirillum brasilense*. La manipulación de combinaciones de microorganismos benéficos tiene potencial para sustituir o reducir el uso de agroquímicos que generalmente tienen elevados costos y riesgos de producir impactos negativos sobre el ambiente. El objetivo de este estudio fue examinar, en invernáculo, el efecto de tres cepas de *A. brasilense* (40M, 42M y Az39) y/o el HFMA *Rhizophagus intraradices* en condiciones de estrés hídrico en las plantas de maíz y de lechuga. También, se analizó el efecto de la adición de una enmienda orgánica preparada con residuos de cosecha de remolacha azucarera digeridos con el hongo *Aspergillus niger*. En las plantas de maíz los efectos más evidentes de las inoculaciones fueron los cambios observados sobre los parámetros fisiológicos y actividades antioxidantes que controlan las reacciones de defensa bajo estrés, tales como ascorbato peroxidasa (APX), catalasa (CAT), glutation reductasa (GR) y superóxido dismutasa (SOD). La reducción de la conductancia estomática y la fuga de electrolitos que evita la deshidratación foliar fue más marcada en las plantas coinoculadas. Las respuestas a ciertos antioxidantes específicos de las plantas inoculadas con las cepas de *A. brasilense* y/o *R. intraradices* reflejan un aumento de la tolerancia al estrés hídrico. Las cepas 42M y Az39 aumentaron GR y APX independientemente de la presencia de hongo HFMA. Las inoculaciones microbianas no tuvieron en el período evaluado, ningún efecto significativo sobre el crecimiento del maíz y la nutrición pero se observaron cambios en las actividades fisiológicas y antioxidantes que promueven la tolerancia a la sequía de este cultivo. Sin embargo, en el caso de la lechuga, los inoculantes aplicados permiten obtener aumentos del crecimiento y una mejor nutrición en las plantas en las mismas condiciones experimentales. El potasio, como el osmolito más importante, aumentó en un 65% en la lechuga coinoculada con la cepa Az39 y *R. intraradices*. La adición de la enmienda orgánica aumentó el peso de las raíces de lechuga, mejoró la nutrición y aumentó la actividad PGPR de la cepa 42M. Las diferencias en la tolerancia al estrés hídrico de las plantas fueran o no inoculadas puede atribuirse a mecanismos combinados que involucran producción de antioxidantes y también efectos fisiológicos y nutricionales. Si bien se observa variabilidad se puede considerar que la aplicación de estos productos microbianos tiene potencial para promover el crecimiento de maíz y lechuga en ambientes con sequía.

## ENDÓFITOS FOLIARES, MICORRIZAS Y RIZOBIOS MEDIANDO LA RETROALIMENTACIÓN PLANTA-SUELO ENTRE PASTOS Y LEGUMINOSAS

García Parisi PA<sup>1,2</sup>, Grimoldi AA<sup>2,4</sup>, Lattanzi FA<sup>5</sup>, Druille M<sup>2,4</sup>, Omacini M<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos - CITNOBA(CONICET - UNNOBA), <sup>2</sup>Cátedra de Forrajicultura, <sup>3</sup>Cátedra de Ecología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, <sup>4</sup>IFEVA-CONICET, <sup>5</sup>Lehrstuhl für Grünlandlehre, Technische Universität München.  
Email: pgarcia@agro.uba.ar

Las plantas pueden afectarse mediante cambios en las condiciones bióticas o abióticas del suelo en procesos de retroalimentación planta-suelo. Los microorganismos simbiotes de plantas pueden intervenir en estos procesos de dos maneras. Por un lado, una planta que hospeda un simbiote puede acondicionar el suelo repercutiendo en el desempeño de otra planta. Por otro lado, este efecto en el suelo pueden ser cambios en la disponibilidad, viabilidad o efectividad de algún simbiote subterráneo. Aquí estudiamos si los cambios en el suelo inducidos por la simbiosis entre un pasto y un hongo endófito foliar afecta el desempeño de una leguminosa al afectar su interacción con simbiotes radicales: rizobios y hongos micorrícicos arbusculares (HMA). La hipótesis es que la simbiosis pasto-endófito afecta negativamente a la disponibilidad o viabilidad de estos microorganismos lo que repercute en la supervivencia, crecimiento y adquisición de nitrógeno (N) de una leguminosa. Se realizó un experimento en el que en primer lugar el suelo fue acondicionado por plantas de la gramínea *Lolium multiflorum* asociada o no a su endófito foliar *Epichloë occultans* y a HMA (*Rhizophagus irregularis*, *Similglomus hoi* y *Funneliformis mosseae*). En ese suelo acondicionado se midió la abundancia de esporas de HMA y la mineralización potencial de N. En segundo lugar, a los suelos acondicionados se trasplantaron semillas germinadas de la leguminosa *Trifolium repens* con alta o baja disponibilidad de inóculo de rizobios (*Rhizobium leguminosarum* *bv trifolii*). Luego de tres meses se midió la supervivencia, el crecimiento y la adquisición de N de la leguminosa. Los suelos acondicionados por plantas endofíticas presentaron menor número de esporas de HMA (33 vs. 42 esporas.g<sup>-1</sup> de suelo, p<0,01) y mayor mineralización potencial de N (~50%, P<0,05) que los acondicionados por plantas no-endofíticas. En cambio, la supervivencia de las plantas y la nodulación con rizobios fueron menores en suelos acondicionados por plantas endofíticas (27 y 38%, respectivamente, p<0,05) y mayores en los acondicionados por plantas asociadas a HMA (24 y 40%, p<0,01 y p=0,05, respectivamente). El crecimiento y la adquisición de N no fueron afectados por los HMA (p>0,1), pero fueron tres veces mayor en los tratamientos con inóculo de rizobios y dos veces en suelos acondicionados por plantas endofíticas (p<0,05). De hecho, los efectos del acondicionamiento ejercido por plantas endofíticas compensó totalmente la baja disponibilidad de rizobios. En conclusión, la presencia de endófitos foliares de pastos disminuye el potencial de los simbiotes subterráneos al disminuir la disponibilidad de esporas de HMA o la nodulación con rizobios de *T.repens*. A su vez los cambios en el suelo disminuyeron la supervivencia de plantas de *T. repens* independientemente de los simbiotes subterráneos, pero afectaron el crecimiento y la fijación de N de dichas plantas en situaciones de baja disponibilidad rizobios.

POTENCIAL DEL SISTEMA HONGOS DSE-*Arabidopsis thaliana*: EVALUACIÓN DEL EFECTO DE *Microdochium bolleyi* EN ESTA PLANTA HOSPEDANTE

Ghezso D<sup>1</sup>, Rothen C<sup>1</sup>, Lo T<sup>1</sup>, Fernández Di Pardo A<sup>1</sup>, Godeas Alicia M<sup>1</sup>, Rodríguez María A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología del Suelo –Depto. de Biodiversidad y Biología Experimental -  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad de Buenos Aires. Email:  
danifergh@gmail.com

Los hongos DSE (*Dark Septate Endophytes*) constituyen un grupo de endofitos no relacionados taxonómicamente, que pueden dar origen a respuestas variables en sus hospedantes. Diversos estudios mencionan que están ampliamente distribuidos y se han encontrado en numerosas especies de plantas. *Microdochium bolleyi* ha sido incluido dentro de este grupo endofitos. Por su parte, *Arabidopsis thaliana*, planta perteneciente a la familia Brassicaceae y que debido a sus características, es considerada como un excelente modelo para el estudio de muchos aspectos de la biología vegetal, también puede constituir una interesante alternativa para el estudio de interacciones con microorganismos, y con hongos en particular.

Con el fin de evaluar el potencial de este modelo para el estudio de los efectos de los hongos DSE, se planteó como principal objetivo caracterizar una cepa de *M. bolleyi*, en cuanto a su capacidad infectiva, patrón de colonización y efectos sobre *A. thaliana*. Para ello se evaluó la interacción entre *M. bolleyi* y *A. thaliana*, a través del co-cultivo *in vitro* en MS, en condiciones controladas, cosechando las plántulas luego de 4 semanas de incubación con la cepa. Se emplearon diferentes técnicas de microscopía y se determinaron entre otros, el porcentaje y patrón de colonización, el porcentaje de inducción/inhibición del desarrollo del área foliar, las ramificaciones radiculares y la longitud total de raíz en plántulas inoculadas y no inoculadas. Además se evaluó la capacidad del hongo DSE para producir ciertas enzimas hidrolíticas, y solubilizar fósforo.

El hongo DSE fue capaz de producir exo y endoglucanasas pero no pectinasas, y no presentó capacidad para solubilizar fósforo. Las plántulas inoculadas con la cepa no sólo no presentaron síntomas de enfermedad, sino que además, mostraron un mayor desarrollo foliar y raíces más ramificadas en relación con los controles, pero las diferencias encontradas resultaron ser significativas para el porcentaje de inducción del área foliar (64.60%) y de ramificaciones (80.25%) sólo una semana después de la inoculación. *M. bolleyi* colonizó las raíces a través de micelio superficial e intraradical, observándose la formación de clamidosporas y escasos microesclerocios. Si bien los resultados obtenidos en este trabajo muestran que *M. bolleyi* es capaz de colonizar exitosamente las raíces de *A. thaliana* sin alterar el tejido radical, y además afectar en forma positiva el crecimiento de la planta, se requerirán ensayos adicionales, en distintas condiciones que permitan comprender en mayor profundidad el modo en que interactúan estos dos organismos y el potencial de este sistema como modelo para el estudio interacción planta-hongo.

## SELECCIÓN DE VARIANTES MÁS MÓVILES DE DOS CEPAS ALÓCTONAS CON BUENA CAPACIDAD FIJADORA DE N

Iturralde ET<sup>1</sup>, Pérez Giménez J<sup>1</sup>, Covelli JM<sup>2</sup>, Lodeiro AR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM). Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata y CCT La Plata-CONICET, Calles 47 y 115 (B1900AJL) La Plata, Argentina, <sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas en el Suelo (LBMIBS), Universidad Nacional de Quilmes, Roque Sáenz Peña 182 (B1876BXD) Bernal, Argentina. Email: iturralde@biol.unlp.edu.ar

La soja frente a la escasez de compuestos nitrogenados asimilables en el suelo puede desarrollar nódulos en sus raíces. Allí se albergarán los rizobios capaces de reducir el N<sub>2</sub> atmosférico a amonio. Esta vía es conveniente ecológica y económicamente, con lo cual el 94% de los productores de soja emplea regularmente inoculantes conteniendo *Bradyrhizobium* spp. (*B. japonicum* o *B. diazoefficiens*) pese a que en los suelos normalmente habitan poblaciones de rizobios noduladores de soja derivados de antiguos inoculantes. Esta práctica se basa en la idea de que los rizobios de la población del suelo son menos eficientes para la fijación de N<sub>2</sub> que los inoculados. De trabajos previos realizados en nuestro laboratorio sobre cien cepas aisladas de distintos suelos sojeros, se hallaron dos con buena capacidad fijadora de N. Las mismas resultaron de aislamientos provenientes de suelos ácidos y mientras una de ellas tiene una buena competitividad frente a E109, la otra no.

Avanzando en la caracterización de estas cepas aisladas de suelos ácidos hemos estudiado sus cinéticas de crecimiento observando que sus velocidades de crecimiento resultaron lentas y similares.

Trabajos realizados en otros países de la región muestran que las poblaciones alóctonas aisladas de suelos con historial de cultivo de soja poseen un alto polimorfismo en comparación con las cepas de los inoculantes. Por lo tanto, es probable que nuestras poblaciones alóctonas también sean diversas. En el caso de las cepas foco de nuestro trabajo, las secuencias que codifican para el ARNr 16S arrojaron una identidad del 97% y 91% para las dos comparadas con *B. japonicum* E109.

Esto último es coincidente con lo que resulta de los experimentos en los que estudiamos los perfiles de flagelinas de estas cepas. Tanto *B. japonicum* como *B. diazoefficiens* poseen dos sistemas de flagelos, uno subpolar y otro lateral, con flagelinas de distinto peso molecular. Experimentos realizados en nuestro laboratorio indican que los perfiles de estas proteínas en un SDS-PAGE varían de acuerdo a la especie. En este sentido, observamos que flagelinas extraídas de ambas cepas alóctonas, tanto de bacterias en medio líquido como semi sólido, mostraron un perfil electroforético coincidente con *B. japonicum* USDA 6.

Con el fin de promover una mejor distribución de los rizobios en el suelo se ha desarrollado un método de selección artificial que permite conseguir cepas de mayor movilidad. Obtuvimos las variantes más móviles de las dos cepas alóctonas y estamos ensayando su capacidad de nodular. Así, con un método relativamente sencillo, estaríamos mejorando la competitividad de dos cepas tolerantes a acidez recuperadas de suelos sojeros que presentan una buena capacidad de fijación de N con lo cual constituirían el foco de un nuevo producto biotecnológico.

UTILIZACIÓN DE MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE PLANTINES EN YERBA MATE (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil)

Schmid P<sup>1</sup>, Badaracco A<sup>2</sup>, López AM<sup>3</sup>, Quezada JM<sup>3</sup>, Kreclevich N<sup>4</sup>, Redes J<sup>5</sup>, Puente ML<sup>6</sup>, García JE<sup>6</sup>, Peticari A<sup>6</sup>

<sup>1</sup>INTA Montecarlo, Misiones, <sup>2</sup>INTA-Conicet, <sup>3</sup> Consultor Fundación APF, Eldorado Misiones, <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Forestales, UNaM, <sup>5</sup>Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, UNaM, <sup>6</sup>IMYZA, INTA Castelar, Buenos Aires. Email: puente.mariana@inta.gob.ar

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) es un árbol nativo del noreste de Argentina, oriente de Paraguay y sur de Brasil. Su consumo se ha expandido debido a su poder estimulante, alto contenido de antioxidantes y beneficios para la salud humana. Argentina es el principal productor con el 90% de las plantaciones de yerba mate concentradas en las provincias de Misiones y Corrientes. En la actualidad, la avanzada edad de las plantaciones y las inadecuadas prácticas de manejo provocan una degradación tanto del cultivo, como del suelo donde se encuentran. Se ha comprobado que numerosos microorganismos del suelo tienen la capacidad de impactar de manera positiva sobre los cultivos, influyendo sobre su crecimiento y sanidad. La inoculación con estos microorganismos potencialmente benéficos, podría ser una alternativa para la reducción del uso de productos químicos, minimizando los riesgos de degradación de los suelos, como también optimizar los procesos de obtención de plantines de los cultivos. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos y las dosis de inoculación de diferentes especies de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en el cultivo de yerba mate.

Los plantines de yerba mate, obtenidos a partir de esquejes de plantas adultas, fueron trasplantados en macetas de 3 l con sustrato de corteza de pino compostado (solarizado). El ensayo se llevó a cabo en un invernáculo con temperatura y humedad controladas (promedio de 25 °C y 70% de humedad) en la EEA INTA Montecarlo, Misiones.

Se evaluaron las siguientes cepas PGPR: Az39 y Az72 de *Azospirillum brasilense*, LSR1 de *Pseudomonas putida*, ZME4 de *Pseudomonas fluorescens*. Las cepas fueron provistas por el Laboratorio de Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal del IMYZA, INTA Castelar. Los inoculantes presentaban una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC ml<sup>-1</sup>. Se evaluaron dos dosis de inoculación: Dosis 1: 5 ml y Dosis 2: 1 ml por planta.

Para el ensayo se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 9 tratamientos (incluyendo el control), evaluándose 10 plantas x tratamiento y 4 repeticiones. A los 6 meses de la inoculación se midieron los siguientes parámetros: altura total, diámetro a la altura del cuello (DAC), número de hojas y brotes por planta. Al final del ensayo se realizó una poda a 20 cm de altura de cada planta y el material obtenido fue utilizado para medir su peso fresco y seco.

El peso seco y el DAC presentaron una respuesta significativa a la inoculación con la cepa ZME4 dosis 1, que produjo aumentos respecto al control del 21% y 25,4% en el DAC y en el peso seco, respectivamente.

Como conclusión, se observa que la inoculación con PGPR puede contribuir a la producción de yerba mate en estadios tempranos, lo que permitiría disminuir los tiempos para la obtención de plantines de buena calidad. Sin embargo, los resultados son preliminares e indican que es importante continuar con el estudio de selección de la/s cepa/s y dosis de inoculación óptima para este cultivo.



AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* NATIVAS Y CARACTERIZACIÓN DE SU CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN E INTERNALIZACIÓN EN PLANTAS DE LECHUGA (*Lactuca sativa*)Dublan MA<sup>1</sup>, Lett L<sup>1</sup>, Curatti L<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio Integrado de Microbiología Agrícola y Alimentos (LIMAYA). Facultad de Agronomía. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, <sup>2</sup> Instituto de Biodiversidad y Biotecnología. Consejo Nacional de Investigación Científica y Técnica (INBIOTEC- CONICET), Mar del Plata, <sup>3</sup> Fundación para Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA), Mar del Plata.

Email: linalett@hotmail.com

En los últimos años, se ha incrementado el número de brotes alimentarios por *Escherichia coli* asociados al consumo de vegetales frescos. En estudios previos, se demostró que la cepa modelo *E.coli* K12 MG1655 es capaz de colonizar e internalizar plantas de lechuga con una rápida adaptación al huésped alternativo. Para evaluar si este comportamiento es extensivo a otras *E. coli*, se procedió a investigar su presencia en suelos de cultivos comerciales y familiares de lechuga en el Centro- Sudeste de la Provincia de Buenos Aires. Para ello, se extrajo suelo de lotes de lechuga de 25 quintas, en establecimientos próximos a las Rutas Nacionales 3 y 226 y Provincial 51. Las muestras se recolectaron entre octubre y marzo de los años 2012 y 2013, al momento de inicio y de finalización de la producción para cada quinta. Se obtuvieron ocho aislamientos de *E.coli* y se los denominó Ec1, Ec2, CMC371, CMC421, CMC372, CMC422, CMC374 y CMC424. Su pertenencia a esta especie fue confirmada por pruebas bioquímicas tradicionales y secuenciación del gen del ADN ribosomal 16S. Por otra parte, se analizó la huella genómica con una técnica basada en secuencias repetidas (Rep-PCR), donde se observó que correspondían a aislamientos diferentes entre sí. Luego, se evaluó su capacidad para colonizar plantas de lechuga. Los ensayos fueron realizados en tubos con solución Hoagland (0,5 X) agarizada (0,6 %) inoculados con 10<sup>8</sup> UFC/mL de sustrato. Una vez solidificada, se colocaron tres semillas de lechuga pre-germinadas en condiciones asépticas por tubo. Los tubos se incubaron a 20 ± 1 °C con 16 h luz (176 µmol fotones/m<sup>2</sup>.s) durante 20 días. Transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a recolectar por separado las hojas y raíces de las plantas de lechuga para cuantificar la presencia de *E. coli*. En las hojas, se pudo observar que todos los aislamientos nativos de *E. coli* mostraron una capacidad de colonización e internalización similar o superior a la observada para la cepa modelo. Mientras que la colonización radicular resultó similar entre todos los aislados y la cepa modelo. Adicionalmente, se evaluó el comportamiento de los aislamientos nativos con respecto a ciclos sucesivos de colonización de plantas de lechuga. Para ello, se obtuvieron células de cada aislamiento a partir de hojas luego de una primera colonización y se las inoculó en el sustrato de nuevas plantas de lechuga. Como referencia, se consideró la colonización de hojas cuando se inocularon sustratos de crecimiento de nuevas plantas con células de los aislamientos cultivados en caldo Luria Bertani. Transcurridos 20 días post-inoculación, se procedió a realizar el recuento de *E. coli* sobre las hojas de cada planta de lechuga. Los resultados observados para los aislamientos Ec1, Ec2, CMC421 y CMC374 mostraron un incremento en la capacidad de colonización de al menos 10 veces, luego de que las células atravesaron un segundo ciclo de colonización en planta; en tanto, aquellos aislamientos que mostraron una colonización inicial superior a K12, no mostraron un aumento en esta capacidad en contactos posteriores con la planta. Este trabajo ha permitido demostrar que en el ambiente de producción de lechugas del Centro-Sudeste de la Provincia de Buenos Aires se encuentran presentes aislamientos de *E. coli* con capacidad para colonizar plantas de esta hortaliza y adaptarse rápidamente al estilo de vida endofítico en este nuevo huésped, lo que constituye un riesgo potencial para la salud de los consumidores.

ESTABILIDAD DE *Burkholderia tropica* EN FORMULACIONES LÍQUIDAS Y EN SEMILLAS DE GRAMÍNEASBernabeu PR<sup>1</sup>, García SS<sup>1</sup>, Ormazabal C<sup>1</sup>, Luna MF<sup>1,2</sup><sup>1</sup>CINDEFI-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas-UNLP, 50 e/115 y 116. La Plata, Bs As, <sup>2</sup>CIC-PBA. Email: mafla@quimica.unlp.edu.ar

**Introducción:** Las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (BPCV) colonizan la rizosfera, el rizoplano o el interior de los tejidos vegetales y actúan como biofertilizantes, bioestimulantes o biocontroladores reduciendo el uso de agroquímicos. Un problema que se encuentra en los ensayos a campo realizados con BPCV es la inconsistencia de la respuesta de las plantas a la inoculación. Por ello, para el desarrollo exitoso de un potencial inoculante a base de BPCV es importante considerar la supervivencia del microorganismo en el medio soporte hasta su utilización y también en la semilla.

**Objetivo:** Con el objetivo final de determinar el posible efecto promotor del crecimiento de *Burkholderia tropica* Mto-293 en cultivos de gramíneas, en este trabajo se evaluó la supervivencia de *B. tropica* en medio líquido con diferentes soportes y en la superficie de semillas de gramíneas con protector y antifúngico.

**Materiales y Métodos:** *Estabilidad en medios líquidos:* la supervivencia de *B. tropica* se evaluó en envases plásticos estériles con y sin el agregado de diferentes soportes para aumentar su viabilidad (Alcohol polivinílico; Gelatina y Goma Xantano) almacenados a 20 °C. Se realizó el recuento de células viables a distintos tiempos post-ensado durante un año. A estos mismos tiempos, se inocularon semillas de trigo con cada formulación, y se evaluó la colonización de las raíces a los 7 días post-inoculación. *Estabilidad en semilla:* la supervivencia de *B. tropica* en semillas de trigo, cebada y sorgo se determinó con y sin protector (sacarosa:jarabe de maltosa) o fungicida. Se realizó recuento de viables en la superficie de las mismas a distintos tiempos post-inoculación.

**Resultados:** El recuento de viables en envases plásticos disminuyó para todos los formulados de manera similar al cultivo sin ningún soporte. No obstante, el microorganismo pudo colonizar tanto superficial como endofíticamente raíces de trigo al inocular semillas con cualquiera de las formulaciones incluso a los 12 meses post-ensado con concentraciones tan bajas como 10<sup>5</sup> UFC/ml.

Se observó que la supervivencia de *B. tropica* en semillas aumentó con el agregado de protector y el microorganismo fue compatible con el antifúngico ensayado.

**Conclusiones:** En términos prácticos, la formulación del inoculante determina el éxito potencial del inoculante. En este caso, ninguno de los aditivos empleados en este trabajo aumentó la viabilidad de *B. tropica* pero el microorganismo pudo colonizar eficientemente los tejidos de las plantas en estudio después de la inoculación de las semillas.

Por otro lado, el agregado de protector mejoró la supervivencia de los microorganismos una vez inoculados en las semillas, pudiendo protegerlos principalmente de la desecación.

Consideramos que el trabajo presentado aporta conocimientos útiles para abordar el estudio de los posibles efectos beneficiosos que *B. tropica* pudiera ejercer en diferentes gramíneas.

BACTERIAS ENDOFÍTICAS AISLADAS DE HOJAS Y RAÍCES DE ÁRBOLES DE PARAÍSO  
(*Melia azedarach*) CON POTENCIAL ACTIVIDAD PROMOTORA DEL CRECIMIENTO  
VEGETAL

Gerometta A<sup>1</sup>, López Gastón MM<sup>1</sup>, Namtz Y<sup>1</sup>, Cardozo MC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Botánica del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias (CONICET-UNNE).  
Email: yo\_maura@hotmail.com

El paraíso (*Melia azedarach* L.), originario de la región del Himalaya, es un árbol muy cultivado en nuestro país. Presenta excelente adaptabilidad a distintos tipos de suelo y condiciones climáticas, es altamente resistente al ataque de insectos y es muy valorado en programas de reforestación. Su principal importancia radica en la multiplicidad de sus usos y en la calidad de su madera (Mangieri *et al.*, 1977). El objetivo del trabajo fue determinar actividades *in vitro* relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal de bacterias endofíticas aisladas de hojas y raíces de árboles de paraíso. Se seleccionaron 37 aislamientos pertenecientes a los órdenes *Bacillales*, *Burkholderiales*, *Enterobacteriales* y *Pseudomonadales*. A fin de descartar probables fitopatógenos primeramente se realizó el test de hipersensibilidad en tabaco de acuerdo con Klement (1963), observándose que ninguno de los aislamientos desarrolló hipersensibilidad sobre las hojas inoculadas. Se determinó la capacidad de fijar nitrógeno y de solubilizar fósforo inorgánico. La habilidad de fijar nitrógeno se evaluó por crecimiento en medio NFb libre de nitrógeno (Dobereiner *et al.* 1995). A su vez también se evaluó la presencia del gen *nifH*, el cual codifica una de las subunidades de la enzima nitrogenasa a través de la amplificación por PCR utilizando los cebadores degenerados PolF/PolR (Poly *et al.*, 2001). La actividad solubilizadora de fósforo se evaluó en placa mediante el método descrito por Nautiyal (1999) determinando el índice de solubilización (IS). El 68 % de los aislamientos fueron capaces de crecer en medio NFb y el 51 % de solubilizar fósforo, un 38 % presentó ambas propiedades. Los órdenes que presentaron mayor frecuencia de representantes con actividad fijadora de nitrógeno fueron *Pseudomonadales* (6 de 7 aislamientos) y *Burkholderiales* (3 de 3 aislamientos). Sólo en tres aislamientos se pudo amplificar el gen *nifH* con la técnica empleada: dos pertenecientes al género *Pseudomonas* y uno a *Serratia*. De los 19 aislamientos capaces de solubilizar fósforo, 8 presentaron baja actividad solubilizadora ( $IS < 2$ ), 6 actividad media ( $2 < IS < 4$ ) y 5 actividad alta ( $IS > 4$ ). Las mayores frecuencias de aislamientos capaces de solubilizar fósforo inorgánico se observaron en los órdenes *Enterobacteriales* (8 de 10 aislamientos) y *Burkholderiales* (3 de 3 aislamientos) mientras que *Bacillales* presentó la frecuencia más baja (4 de 16 aislamientos). Concluyendo, encontramos que la mayoría de los aislamientos endofíticos de paraíso analizados presentan al menos una actividad promotora lo cual indicaría un alto potencial PGPR en la comunidad endofítica de paraíso.

UTILIZACIÓN DE *Azospirillum brasilense* EN LA PRODUCCIÓN DE PLANTINES DE LECHUGA EN CONDICIONES DE SALINIDAD

Fasciglione G<sup>1</sup>, Borrajo MP<sup>1</sup>, Quillehauquy V<sup>1</sup>, Yommi A<sup>1</sup>, Lobato MC<sup>2</sup>, Amenta M<sup>1</sup>, Creus C<sup>1</sup>, Casanovas M<sup>1</sup>, Barassi C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad Integrada Balcarce FCA, UNMdP-INTA, Balcarce, <sup>2</sup>IIB, UNMdP-CONICET, Mar del Plata. Argentina. Email: gabrielafasciglione@yahoo.com.ar

El trasplante es una técnica que permite hacer un uso eficiente de la superficie, sin embargo para que sea exitoso es imprescindible contar con plantines de calidad. La inoculación con *Azospirillum spp.*, beneficia el crecimiento de lechuga en condiciones de salinidad. El objetivo del trabajo fue evaluar si la inoculación con *Azospirillum* mejora la calidad de los plantines de lechuga y la supervivencia al trasplante en condiciones de salinidad. Semillas de *L. sativa* cv. Elisa inoculadas con *A. brasilense* Sp245 (I), o tratadas con buffer (C) se sembraron en bandejas de germinación conteniendo un sustrato inerte. A los 25 días después de la siembra los platinos C e I fueron trasplantados, y a partir de este momento se aplicó el estrés salino mediante riego con una solución 40 mM NaCl. Las macetas se mantuvieron en invernáculo bajo condiciones controladas de luz, temperatura y humedad. Al momento del trasplante y a los 7 días después del trasplante (ddT) se determinó el peso fresco (PF) y seco (PS) aéreo y peso seco de raíces (PSR) y se evaluaron en las hojas los indicadores del estado oxidativo (IEO): actividad antioxidante total (AA) con la técnica del radical DPPH, fenoles totales, flavonoides, ácido ascórbico (ASC) y las actividades ascorbato peroxidasa (APX) y catalasa (CAT). El diseño fue completamente aleatorizado con arreglo factorial (2x2): Salinidad (0 ó 40 mM NaCl) e Inóculo (C e I). Se realizó un análisis de varianza y se compararon las medias con el test de Tukey ( $p < 0.05$ ). El tratamiento de inoculación de las semillas permitió obtener una colonización efectiva de  $10^7$  *Azospirillum*.semilla<sup>-1</sup>. La inoculación revirtió los efectos negativos del estrés sobre PF y PS de las plántulas. Los IEO de las plántulas C se modificaron con la salinidad del NaCl, sin embargo no se detectó un efecto adicional debido a la inoculación con *Azospirillum* en la situación con estrés salino. Esta activación del sistema antioxidante en las plantas C ha sido reportada como un mecanismo de defensa ante situaciones de estrés, dado que permitiría neutralizar el exceso de las especies reactivas de oxígeno y limitar la peroxidación de lípidos de membranas entre otros daños a macromoléculas. En las plántulas inoculadas cultivadas sin estrés salino, al trasplante, los incrementos en fenoles y flavonoides se asociaron con incrementos en la AA, además un menor contenido de ASC acompañó a una mayor actividad APX y CAT. A los 7 ddT la inoculación incrementó 10% la supervivencia de las plántulas con y sin estrés salino y se mantuvo el comportamiento en los IEO excepto en flavonoides. En conclusión, la activación de los mecanismos antioxidantes en las plántulas inoculadas con *A. brasilense*, constituiría una estrategia para mejorar la resistencia al trasplante. Este mecanismo no explicaría el comportamiento de las plantas inoculadas sometidas a estrés salino.

COMPORTAMIENTO DIFERENCIAL ESPECIE-ESPECÍFICO DE UN ENDÓFITO FÚNGICO DEL GÉNERO *LOTUS*

Nieva AS del V<sup>1</sup>, Menendez A B<sup>2</sup>, Ruiz OA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biotecnológicas. Instituto tecnológico de Chascomús. IIB-INTECH (CONICET/UNSAM). Av. Intendente Marino km 8,2. CC 164 (B7130IWA). Chascomús, Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA. Piso 4 Pab II Ciudad Universitaria (1428). Buenos Aires, Argentina.  
Email: susanna\_nieva@hotmail.com

Diversos microorganismos endófitos proveen de una amplia gama de beneficios a sus hospedantes, por lo que su utilización como potenciales biofertilizantes puede constituirse en una tecnología sustentable y de bajo costo. Sin embargo, también se ha demostrado que las interacciones de organismos endófitos con sus plantas hospedantes son muy variables dentro del ecosistema, pudiendo oscilar entre mutualistas a patogénicas. En este trabajo, se aislaron cepas fúngicas de la endo-rizósfera de *Lotus tenuis*, importante especie forrajera de alto valor agronómico en las áreas edáficas marginales de la región de la Pampa Deprimida del Salado. Dichas cepas fueron evaluadas respecto de sus capacidades para solubilizar fósforo y tolerar la salinidad y la alcalinidad. Sobre esta base se seleccionó una cepa, cuya infectividad y efecto como endófito en raíces fueron evaluados en plantas de *L. tenuis* y de *L. japonicus*, especie modelo de leguminosas de nodulación determinada. Para ello, se infectaron 10 plántulas de ambas especies, utilizando como inóculo bloques de medio de cultivo agar papa glucosado, los cuales contenían micelio en activo crecimiento. Al finalizar el período de incubación se evaluó la biomasa de cada hospedante expresada en gramos de peso seco, y a partir de los resultados obtenidos se consideró a la interacción como positiva, negativa ó neutra según se observase un aumento, una disminución, o la no existencia de diferencias con respecto al control no inoculado, respectivamente. Se cuantificó el peso seco de las raíces y se colectaron muestras para confirmar la infección, siguiendo los postulados de Koch. A nivel fisiológico se cuantificaron parámetros de fluorescencia de la clorofila.

En base a la cuantificación de biomasa aérea, pudo determinarse un comportamiento diferencial de la cepa inoculada según la especie hospedante: en *L. tenuis* se observó una interacción negativa, mientras que plantas de *L. japonicus* fueron beneficiadas, registrándose una significativa promoción de su crecimiento. Por el contrario, los parámetros de fluorescencia de la clorofila no variaron significativamente para el caso de *L. tenuis*, mientras que para *L. japonicus* disminuyeron a consecuencia de la interacción, aunque los valores de esta relación siguieron manteniéndose dentro de los estimados para el género *Lotus*, cuando la planta no se encuentra estresada.

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que el efecto del endófito varía según la especie hospedante, a pesar de que ambas pertenezcan al mismo género y se encuentran filogenéticamente cercanas. Asimismo podemos inferir que el efecto contrastante observado debe necesariamente tenerse en cuenta, si el objetivo tecnológico final constituye la utilización del microorganismo como un biofertilizante específico del género *Lotus* spp. Por otra parte, también deja en evidencia que se requieren de mayores ensayos para determinar su potencialidad en otras especies y ambientes edáficos de interés agrícola.

## SELECCIÓN DE RIZOBIOS EFICIENTES PARA VARIEDADES COMERCIALES DE ARVEJA

Piccinetti CF<sup>1</sup>, Peticari A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INTA-IMyZA. Email: piccinetti.carlos@inta.gov.ar

La arveja (*Pisum sativum* L.) tiene la capacidad de disponer nitrógeno (N) de dos fuentes naturales, una mineral proveniente del suelo y otra desde la Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) por asociarse con bacterias del suelo fijadoras de N<sub>2</sub>. Para seleccionar cepas de rizobios para leguminosas se emplean principalmente dos criterios la infectividad (capacidad de generar nódulos) y la efectividad (capacidad de fijar nitrógeno). El objetivo de este trabajo fue evaluar cepas pertenecientes a la colección IMYZA por su infectividad y efectividad en variedades comerciales de arveja. El ensayo se realizó en el invernáculo del IMYZA en INTA Castelar, con dos variedades (Facón y Vipper), tres cepas de *Rhizobium leguminosarum* (D70, D156 y D191) y un control sin inocular; se utilizó un diseño factorial 2x4 con 4 bloques aleatorizados. Las semillas fueron tratadas con inoculante de base turba (3g inoculante/kg de semillas con 5.10<sup>8</sup> ufc/g de inoculante) y se sembraron en macetas de 2 litros. Se utilizó un sustrato inerte estéril (vermiculita) y regado con solución nutritiva sin N. La siembra se realizó el 21/8/13 y la cosecha el 19/11/13. Los tratamientos se evaluaron en: 1) estado vegetativo; 2) floración y 3) llenado de granos y 4) cosecha. Se determinó longitud de raíces (LR) y aérea (LA), número de nódulos (NNod) y peso de nódulos (PNod) en las primeras instancias, la biomasa aérea total (BAT) en las cuatro evaluaciones y rinde (R) y sus componentes como número de granos (Ng) y peso del grano (Pg), en cosecha. Los resultados fueron analizados con el programa InfoStat (versión 2013). En el estado vegetativo, D156 fue la mejor en la LA y en la BAT y el aislamiento D70 se destacó en la expresión de la nodulación como en el NNod y en el PNod. En floración D70 fue superior en el PNod y peso individual del nódulo. El R fue mayor con D156 y D70 respecto de D191, de la misma manera con el Ng promedio D156 y D70 (4.5 y 4.0 granos/pl, p=0.0033) superaron a D191 (3.0 granos/pl). Los resultados de este trabajo indican a D156 como el mejor en el crecimiento inicial (LA y BAT), D70 lo fue en la expresión de la nodulación y ambos tuvieron mayor producción de granos que D191. La información obtenida ratifica a D70 como cepa recomendable para inocular arveja y sugiere evaluar a D156 en condiciones de campo para incluirla como otra cepa promisorias. En cambio D191 no resultó eficiente en los parámetros evaluados y no debe ser considerada para usos productivos.

DIFERENCIAS ESPECÍFICAS ENTRE GRAMÍNEAS C<sub>3</sub> Y C<sub>4</sub> EN LA UTILIZACIÓN DEL FÓSFORO APORTADO POR MICORRIZAS Y/O FERTILIZACIÓN

Cavagnaro RA<sup>1,2</sup>, Oyarzabal M<sup>1,3</sup>, Oesterheld M<sup>1,4</sup>, Grimoldi AA<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>IFEVA-CONICET, <sup>2</sup>Cátedra de Botánica Sistemática, <sup>3</sup> Departamento de Métodos Cuantitativos y Sistemas de Información, <sup>4</sup>Cátedra de Ecología y <sup>5</sup>Cátedra de Forrajicultura, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453, C1417DSE, Buenos Aires, Argentina. Email: rcavagna@agro.uba.ar

A medida que las plantas crecen, la proporción de tejidos estructurales aumenta y la concentración de nutrientes disminuye, aun cuando la disponibilidad de nutrientes en el suelo se mantiene constante. Si la tasa de crecimiento se mantiene, se produce más biomasa por unidad de nutriente absorbido y aumenta la eficiencia en el uso de los nutrientes. El objetivo del trabajo fue evaluar variaciones en la eficiencia de utilización del fósforo (EUF) en relación al tamaño de planta en gramíneas forrajeras como resultado de la provisión de fósforo por micorrizas y/o fertilización. Se llevó a cabo un experimento manipulativo para dos especies de interés forrajero con respuestas micorrícicas contrastantes: *Agropyron elongatum* (C<sub>3</sub>, baja respuesta) y *Brachiaria brizantha* (C<sub>4</sub>, alta respuesta). Para cada especie se utilizó un diseño factorial: inoculación con hongos micorrícicos arbusculares (no inoculado e inoculado) y suministro de fósforo soluble (bajo: 0,02mM; intermedio: 0,1mM y alto: 1mM). La inoculación se realizó agregando al sustrato una mezcla de tres especies de hongos micorrícicos: *Rhizophagus irregularis*, *Similglomus hoi* y *Funneliformis mosseae*. El grado de colonización micorrícica fue similar entre especies, los valores más altos se registraron en condiciones de bajo fósforo. Sin embargo, la respuesta de las plantas a la inoculación con hongos micorrícicos fue distinta entre especies y tratamientos de fertilización: *B. brizantha* en bajo e intermedio suministro de fósforo, las plantas inoculadas tuvieron menor concentración interna de fósforo pero notables incrementos en términos de producción de biomasa. En cambio, en *A. elongatum* la inoculación con hongos micorrícicos produjo un mayor incremento en la concentración de fósforo, en relación a la producción de biomasa, que se tradujo en una mayor acumulación de fósforo en los tejidos. Este contraste expresado en términos de EUF, teniendo en cuenta a su vez las variaciones simultáneas en el tamaño de las plantas, demuestra que *B. brizantha* fue la especie más eficiente en el uso del mayor fósforo absorbido (tanto por presencia de micorrizas como por fertilización), debido a que en todas las situaciones del gradiente de fósforo planteado se registró una fuerte promoción en el crecimiento de las plantas.

ROL DEL COFACTOR PQQ DE LA BACTERIA *Serratia* sp. S119 EN LA RESPUESTA ANTIOXIDANTE Y EN LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA DE DEFENSA DE LA PLANTA DE MANÍ

Ludueña L<sup>1</sup>, Fabra A<sup>1</sup>, Taurian T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Qcas y Naturales, Departamento de Ciencias Naturales. Argentina. Agencia Postal 3. Email: lluduenaa@exa.unrc.edu.ar

El cofactor redox pirroloquinolina quinona (PQQ) ha sido descrito como un cofactor esencial para el fenotipo solubilizador de fosfato (P) en bacterias Gram negativas. Sin embargo, recientemente ha sido informado que PQQ participaría en otros procesos relacionados a la promoción del crecimiento vegetal, en la respuesta antioxidante frente a estrés oxidativo en bacterias y podría estar involucrado en la modulación de la respuesta de defensa de la planta durante la interacción con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB). Se conoce que, durante las etapas tempranas de la interacción plantas PGPB, las bacterias podrían prevenir o superar la respuesta de defensa de la planta, posibilitando una posterior interacción exitosa. Objetivo: generar conocimientos acerca del rol del cofactor bacteriano PQQ en la respuesta de defensa de la planta de maní durante la interacción.

Se trabajó con la cepa solubilizadora de P *Serratia* sp S119 aislada de plantas de maní y la mutante isogénica *Serratia* sp RSL (*pqqE*-) deficiente en la producción de PQQ y en su capacidad de solubilizar P. Para elucidar si la deficiencia en la síntesis de PQQ genera una disminución en la respuesta de defensa mediada por el sistema antioxidante enzimático cuando la misma es expuesta a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, se determinó la actividad de las enzimas catalasa (CAT) (Aebi 1984; D'Haeze y col. 2004) y peroxidasas totales (PX) (Sosa Alderete y col. 2009) en las bacterias *Serratia* sp S119 y *Serratia* sp RSL (*pqqE*-). Para evaluar la existencia de un estallido oxidativo en la planta de maní cuando es inoculada con dichas bacterias así como la participación de PQQ en la modulación del mismo, las raíces fueron inoculadas con las cepas *Serratia* sp S119, *Serratia* sp RSL o con *Serratia* sp RSL suplementada con PQQ. Se incluyeron como controles plantas sin inocular y plantas sin inocular suplementadas con PQQ. A los 0, 5, 10, 15, 30, 60, 240 minutos y 24 hs postinoculación se cuantificó la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Alexievia y col. 2001).

Los resultados obtenidos indicaron que las actividades CAT y PX totales de la cepa mutante *pqqE*- creciendo en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fueron significativamente menores a las de la salvaje. En los ensayos de inoculación en plantas se determinó que a los 60 min pi los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presentes en las raíces inoculadas con la cepa mutante *pqqE*- fueron estadísticamente superiores a los producidos en las inoculadas con la cepa salvaje. Ello sugiere que la proteína PQQ participaría en la respuesta de defensa de *Serratia* sp S119 frente a estrés oxidativo y que podría modular la respuesta de defensa de la planta de maní durante la interacción.



## INDUCCIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO COMO MECANISMO DE FITOPATOGENICIDAD DE FUMONISINA B1 EN MAÍZ

Otaiza SN, Mary VS, Arias SL, Rubinstein HR, Theumer MG

CIBICI-CONICET. Dpto. de Bioq. Clínica. Fac. de Cs. Qcas. U.N.C. Córdoba. Argentina.

Email: sotaiza@fcq.unc.edu.ar

La fumonisina B1 (FB1) es una toxina producida por *Fusarium verticillioides*, un fitopatógeno que frecuentemente infecta al maíz. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio mostraron que FB1 es un factor de patogenicidad importante en la interacción hongo-planta, induciendo por sí sola muchos de los signos fitopatológicos observados en la infección.

En general los distintos germoplasmas de maíz responden diferente a la invasión y fitopatología causada por *Fusarium spp.*, clasificándose como híbridos susceptibles (HS) y resistentes (HR). La susceptibilidad/resistencia estaría relacionada con los mecanismos de defensa de las plantas, incluyendo la síntesis de especies reactivas de oxígeno para limitar la diseminación fúngica, que además causaría daños en biomoléculas (por ejemplo lípidos, con la producción de malondialdehído; MDA), activación de enzimas antioxidantes, inducción de fitohormonas como ácido salicílico (AS) e incluso la muerte celular.

El objetivo fue evaluar los niveles de muerte celular inducida por FB1 en HS y HR de maíz y correlacionarlo con el estado oxidativo y niveles de AS de las plantas expuestas a la micotoxina.

Se obtuvieron plántulas de maíz a partir de semillas de HR (LT621MG) y HS (HX31P77), las cuales fueron cultivadas en hidroponia. A los 14 días fueron tratadas con concentraciones de 0 (Control); 1 y 20 ppm de FB1. A las 6 y 24 horas post tratamiento (hpt) se cuantificó la muerte celular por conductividad eléctrica, y se determinaron mediante espectrofotometría los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y MDA, y las actividades superóxido dismutasa (SOD) y guayacol peroxidasa (GPOX) en raíz y en parte aérea (PA). El AS se cuantificó por HPLC.

FB1 (1 y 20 ppm) indujo distinto perfil de muerte en ambos tiempos estudiados (inhibición 6 hpt e inducción 24 hpt) tanto en HS como en HR. La toxina indujo la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en ambos híbridos y tiempos estudiados. Además, se registraron aumentos de MDA en HS (6 hpt en PA; 1 y 20 ppm de FB1) y HR (raíz y PA: 6 hpt con 1 ppm; y 24 hpt con 20 ppm de FB1). Se observaron mayores actividades SOD y GPOX sólo en el HR, mientras que en HS disminuyeron significativamente o no hubo variación con respecto al Control.

FB1 (1 y 20 ppm) indujo disminución del AS a 6 hpt en HR, mientras que a 24 hpt se registró un aumento (1 ppm). La toxina (20 ppm) disminuyó los niveles de AS en el HS en ambos tiempos evaluados.

FB1 por sí sola indujo estrés oxidativo en ambos híbridos, siendo el HR más tolerante debido a la mayor actividad de las enzimas antioxidantes. Los resultados sugieren que la muerte celular se produciría por una vía “dependiente” de AS en el HR, mientras que en el HS no estaría mediada por esta fitohormona.

DIVERSIDAD DE HONGOS ENDOFÍTOS EN PLANTAS DE TABACO (*Nicotiana tabacum* L.)  
DE LA PROVINCIA DE JUJUY

Vianna MF<sup>1</sup>, Bucszinsky AM<sup>1</sup>, Russo L<sup>1</sup>, Rodriguez S<sup>2</sup>, Pelizza, S<sup>1</sup>, Scorsetti AC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Botánica Carlos Spegazzini (Facultad de Ciencias Naturales y Museo-Universidad Nacional de La Plata) La Plata, Argentina, <sup>2</sup>Cooperativa de Tabacaleros de Jujuy. Email: florvianna@yahoo.com.ar

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) es la especie de uso no alimenticio más cultivada en el mundo y contribuye significativamente en la economía global mundial. En Argentina el área ocupada por cultivos de tabaco es de 91.600 ha, con una producción total de 161.000 toneladas por año. Las provincias de Jujuy, Salta y Misiones son las que producen aproximadamente el 80% del tabaco nacional. Así como la producción de tabaco creció considerablemente, lo mismo sucedió con las exportaciones, que representan una importante fuente de divisas para las provincias productoras. Los organismos denominados endófitos son aquellos capaces de residir dentro de tejidos vegetales de manera asintomática, han sido registrados en una gran variedad de plantas vasculares y en diversos tipos de hábitat. El creciente interés en su estudio radica en su potencial uso como vectores genéticos, como fuente de metabolitos secundarios y como agentes de biocontrol. El objetivo de este estudio fue investigar cuali- y cuantitativamente la biodiversidad de hongos endófitos provenientes de plantas de tabaco cultivadas en la provincia de Jujuy, Argentina. Las plantas fueron colectadas de 4 fincas de tabaco ubicadas en la localidad de Perico, durante el mes de diciembre 2014. Se seleccionaron 10 plantas al azar, sin síntomas de infección en cada finca. Para determinar los endófitos presentes, las plantas fueron esterilizadas superficialmente a fin de eliminar cualquier contaminación por parte de epífitos. Para ello, las distintas partes (raíz, tallo y hoja) fueron sumergidas en alcohol 70% (2min), hipoclorito de sodio (1 min) y por último se realizaron 3 enjuagues sucesivos en agua destilada estéril. Fragmentos de 5-7 mm fueron colocados en placas con agar papa glucosado más antibióticos (cloranfenicol y estreptomina). Las placas se revisaron diariamente y cualquier micelio presente fue aislado y purificado para su posterior identificación. Se analizaron un total de 720 fragmentos. La finca que presentó un mayor índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) fue la 2 ( $H' = 3.689$ ), cuyos géneros más representativos fueron: *Absidia* (10.48%), *Fusarium* (10.48%) y *Nigrospora* (10.48%). Las fincas 1, 3 y 4 presentaron  $H'$  de 2.733, 2.928 y 2.504 y los géneros más frecuentes fueron *Fusarium* (10.44%), *Alternaria* (15.45%) y *Acremonium* (27.21%) respectivamente. El presente estudio contribuye al conocimiento de la diversidad de endófitos fúngicos del tabaco y al aislamiento de cepas con posible interés y aplicación agronómica. Esta investigación fue subsidiada por PICT 2013-0543.

*Azospirillum brasilense* INDUCE MODIFICACIONES ANATÓMICAS E INCREMENTA LA TOLERANCIA AL ESTRÉS SALINO DURANTE EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE JOJOBA

Gonzalez AJ, Yarte ME, Larraburu EE, Llorente BE

CULTEV. Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Nacional de Luján.

Email: anajuliagonzalez@yahoo.com.ar

*Simmondsia chinensis* (Link) Schn. Jojoba es un arbusto cuyas semillas contienen una cera líquida que es utilizada en la industria de lubricantes y cosmética. El aumento de la salinidad en suelos productivos motiva la realización de estudios para lograr metodologías que permitan incrementar la resistencia a estas condiciones. La bacteria rizosférica *Azospirillum brasilense* ha sido ampliamente utilizada como promotora del crecimiento vegetal, reduciendo el uso de agroquímicos y la contaminación ambiental. El objetivo de este trabajo fue evaluar, mediante estudios anatómicos y productivos, si *A. brasilense* es capaz de mitigar los efectos del estrés salino durante el enraizamiento *in vitro* de jojoba.

Se utilizaron brotes de jojoba multiplicados en medio Murashige-Skoog, vitaminas de Gamborg, 3% sacarosa, 0,7% agar (MB) y 4,44M bencilamino purina. La inducción de raíces se realizó en MB con sales a mitad de concentración (MR) suplementado con ácido indolbutírico (AIB) (24,6 ó 49,2M) durante 6 días. Posteriormente, los brotes se transfirieron a MR libre de hormonas con diferentes concentraciones de NaCl (0, 40, 80, 120 y 160mM) y se inoculó su base con  $10^7$  UFC de las cepas Cd o Az39 de *A. brasilense*. Los controles fueron plantas sin inocular. Al finalizar los ensayos se tomaron muestras de tallo y hoja que fueron tratadas para ser observadas con microscopio óptico. Además, se determinó la Dosis Inhibitoria 50% (DI-50) a partir de curvas de regresión construidas con los porcentajes de enraizamiento.

Las cepas Cd y Az39 de *A. brasilense* indujeron hojas de jojoba con menor ancho de mesófilo y de las células del clorénquima, aumentaron la densidad celular y no modificaron el espesor de la epidermis en las concentraciones de NaCl ensayadas. Además, en la corteza de los tallos se observaron incrementos del ancho y del tamaño celular y menor densidad de células. En general, los diámetros de los vasos aumentaron con la bacterización.

La DI-50 dependió de la inducción auxínica y la cepa utilizada. La DI-50 en los tratamientos sin inocular e inducidos con 24,6 M IBA fue 82 mM NaCl, mientras que con 49,2 M IBA fue 90 mM NaCl. La bacterización desplazó los DI-50 a concentraciones mayores de NaCl respecto a los controles. Los valores más altos correspondieron a las combinaciones *A. brasilense* Az39 - 24,6 M AIB (164 mM NaCl) y *A. brasilense* Cd - 49,2 M AIB (216 mM NaCl) indicando una mayor tolerancia al estrés salino de los brotes inoculados.

En conclusión, los estudios anatómicos y los análisis estadísticos del porcentaje de enraizamiento demostraron que las plantas de jojoba inoculadas con *A. brasilense* aumentaron la tolerancia al estrés salino.

## SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL PARA CULTIVOS DE SOJA Y MAÍZ

Lami MJ<sup>1</sup>, Costa Gutierrez SB<sup>1</sup>, Vincent PA<sup>1</sup>, Espinosa-Urgel M<sup>2</sup>, de Cristóbal RE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO) CONICET-UNT e Instituto de Química Biológica “Dr. Bernabé Bloj”, Facultad de Bioquímica Química y Farmacia, UNT. Chacabuco 461, T4000ILI, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina, <sup>2</sup>Departamento de Protección Ambiental, Estación Experimental Del Zaidín (EEZ-CSIC), Granada-España. Email: majesuslami@hotmail.com

Un gran problema ambiental a nivel mundial es la pérdida de suelos agrícolas, causada por su uso excesivo y mala gestión. Esto genera disminución de la materia orgánica, pérdida de la estructura natural del suelo e incremento de la salinidad, entre otros efectos. Por otra parte, hay un número de bacterias asociadas a las raíces de las plantas que, de manera directa e indirecta, ayudan a las plantas a crecer o soportar adversidades. A estas se las denomina rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, siglas en inglés). En los últimos años está aumentando el uso de estas bacterias como biofertilizantes y agentes de biocontrol en cultivos intensivos de interés agronómico. De las Salinas de Santiago del Estero, se aislaron rizobacterias con el fin de seleccionar posibles PGPR para su uso como inoculantes en suelos salinos. Para ello, los aislamientos se identificaron por secuenciación del gen 16S y se caracterizaron bioquímicamente en cuanto a sus características como PGPR, determinando la capacidad de solubilizar fosfato inorgánico mediante el crecimiento en medio sólido con fosfato tricálcico (medio agar NBRIP), la producción de indoles totales (auxinas) mediante la reacción colorimétrica con el reactivo de Salkowsky y la producción de sideróforos mediante una variante de la técnica del Cromo Azurol Sulfonato, O-CAS (“overlay CAS”). Además, se realizó una prueba de germinación en semillas de soja y maíz con las distintas cepas en placas de petri con papel absorbente estéril, humedecido con solución de NaCl 0.5 M. Las placas se incubaron en estufa a 30°C durante 1 semana. Para cada tratamiento se realizó un control de germinación con agua destilada estéril. En todas las determinaciones se utilizó *Pseudomonas putida* KT2440 como control positivo (cepa PGPR). De las 25 cepas aisladas, se seleccionaron 4, identificadas como *Halomonas sp.* (H6), *Bacillus thuringiensis* (BT8) y *Pseudomonas stutzeri* (PS19 y PS21). Esta selección se basó en sus características PGPR y en los resultados del ensayo de germinación, en los que se comprobó que dos de ellas mejoran la germinación de soja (PS19 y PS21), y las otras dos la del maíz (H6 y BT8). Nuestros resultados indican que las cepas seleccionadas son potenciales PGPR de interés agronómico y que existe una relación de afinidad específica planta-bacteria.

## SISTEMA URUGUAYO DE FISCALIZACIÓN DE INOCULANTES Y PUESTA EN VALOR DE LA COLECCIÓN NACIONAL DE CEPAS DE RIZOBIOS

Barlocco C<sup>1</sup>, Mayans M<sup>2</sup>, Mattos N<sup>1</sup>, Mortalena M<sup>1</sup>, Altier N<sup>1</sup>, Beyhaut E<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología de Suelos-Plataforma Bioinsumos-INIA. Uruguay, <sup>2</sup>Dirección General de Servicios Agrícolas-Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Uruguay. Ruta 48/Km 10, Canelones-Uruguay. Email: ebeyhaut@inia.org.uy

A partir del convenio de cooperación interinstitucional firmado en el 2012, el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP) acordaron combinar capacidades para dar continuidad al sistema de registro y control de calidad de inoculantes, un antecedente que, desde la década de 1960 y mediante el trabajo conjunto del sector público y privado, hizo posible la producción nacional de inoculantes de alta calidad para leguminosas. Desde entonces, los inoculantes han tenido amplia adopción por el sector productivo, y el éxito de esta biotecnología ha aparejado importantes beneficios económicos y ambientales para el país. Mediante este acuerdo, INIA proporciona los servicios de análisis de inoculantes, mientras que el MGAP continúa con la fiscalización de los mismos. Asimismo, INIA realiza la curaduría de la Colección Nacional de Cepas de Rizobios, suministra las cepas recomendadas oficialmente a las industrias de inoculantes y pretende ampliar, caracterizar y aumentarle su valor. Esta colección, perteneciente al MGAP, fue concebida como una colección abierta y sin fines de lucro y constituyó, por muchos años, la base de los programas de selección de cepas para leguminosas de interés agronómico, de donde surgieron las recomendaciones oficiales para la industria nacional de inoculantes. Para facilitar la comunicación interinstitucional del convenio y la gestión de la información, se creó una página web donde los resultados de los análisis, la solicitud de cepas y otra información pertinente es compartida por ambas instituciones y por las empresas registradas en el MGAP. Los registros y controles de calidad de muestras deben seguir protocolos estandarizados y aprobados, donde se incluyen ensayos de recuento en placa, determinación de contaminantes, número más probable, identificación genética y eficiencia simbiótica. A la fecha existe un total de 114 productos registrados, de los cuales el 69% corresponde a leguminosas forrajeras y el 31% a inoculantes para soja. El 77 % elaborado en soporte turba, 18 % en líquido y 5 % de semillas preinoculadas. En promedio se analizan un total de 150 lotes anuales que corresponde al total de lo comercializado en los cuales se observa una aceptación de 87%, siendo de mayor a menor las causas del rechazo la contaminación, concentración e identificación. Con respecto a la Colección Nacional de Cepas de Rizobios, se evaluaron 337 cepas identificadas con el código "U" (Uruguay), priorizando las 20 cepas comerciales (recomendadas y entregadas anualmente a la industria de inoculantes). Luego de ser evaluada por viabilidad y pureza en medio YEM-agar, TSA y AS, la colección se conservó en tubos con YEM-agar inclinado a 4°C, liofilizadas y en glicerol (-20°C y -80°C). Las 20 cepas comerciales fueron caracterizadas genética, bioquímica y fisiológicamente por BOX-PCR, API 20E, solubilización/mineralización de fósforo y eficiencia simbiótica. El funcionamiento eficiente de las actividades enmarcadas en el Convenio INIA-MGAP permitió que los inoculantes microbianos continúen con una amplia adopción por el sector productivo, creando normativas para el registro y control de inoculantes formulados con microorganismos no rizobios, *Herbaspirillum*, *Azospirillum* y *Pseudomonas*. Los resultados alientan a continuar con el estudio de las cepas de la colección, generando tecnologías de innovación para el manejo de la fertilización en base a microorganismos y la conservación del recurso suelo.

## EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE BIOINOCULANTES FÚNGICOS: UNA APROXIMACIÓN A LA ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO ESTANDARIZADO.

Vogrig JA, Fernández Di Pardo A, Espeche MC, Barrera VA, Rojo R, Ábalo M, Scandiani M, Durman S, Chiocchio VM, Astiz Gassó MM, Tosi M, Gardella N.

Red de Control de Calidad de Inoculantes (REDCAI), División Microbiología Agrícola y Ambiental, Asociación Argentina de Microbiología. Deán Funes 472, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Email: vogrig@agro.uba.ar

En las últimas décadas ha aumentado sustancialmente la producción de bioinoculantes, con el objetivo de reducir la contaminación ambiental causada por agroquímicos. Entre los bioinoculantes fúngicos se destaca el género *Trichoderma*, por sus propiedades como agente de control de fitopatógenos y promotor del crecimiento vegetal. Hasta la fecha no disponemos de un protocolo estandarizado de evaluación de inoculantes fúngicos que permita comparar entre distintos laboratorios los resultados de los análisis de calidad de estos productos. Por ello, nuestro objetivo es comparar metodologías para desarrollar y validar un protocolo consensuado de control de calidad de inoculantes a base de *Trichoderma*. De la experiencia participaron 7 laboratorios (L1-L7) de instituciones públicas y privadas. A partir de una misma muestra de producto comercial, se determinó el número de conidios totales y viables, comparando 3 protocolos que difirieron en el proceso de homogeneización de la muestra: A) agitador magnético 30min a 450rpm (L1-L7); B) agitador orbital 60min a 90rpm y baño ultrasónico por 5min (L2 y L5); C) agitador orbital 30min a 200rpm (L6 y L7). Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas en solución salina con Tween 80. Para el recuento en placa se empleó agar papa glucosado con Tritón X100. Las placas se incubaron durante 72h a 25°C en oscuridad. Para evaluar las diferencias de cada protocolo entre laboratorios, se realizó un ANOVA con comparaciones de Tukey o, en el caso de comparaciones apareadas (protocolos B y C), se utilizó la prueba de Wilcoxon. El recuento de conidios totales difirió entre laboratorios utilizando todos los protocolos ( $p < 0,05$ ), con algunas excepciones en el protocolo A, donde no se observaron diferencias entre los laboratorios L2 y L3, y L4 y L5. Por otra parte, la variabilidad intra-laboratorio fue relativamente baja para todos los laboratorio y protocolos ( $CV = 16,3-27,3\%$ ). Por el contrario, las UFC  $ml^{-1}$  no mostraron diferencias entre laboratorios para los protocolos B y C, pero sí para el protocolo A, donde L6 fue menor a L1, L2 y L4 ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, los protocolos B y C aún no pueden ser adoptados, dada la inconsistencia en el recuento de conidios en cámara y a que sólo 2 laboratorios participaron en su ejecución (por disponibilidad de equipamiento). Por otra parte, la variabilidad intra-laboratorio de las UFC fue superior a la del número de conidios ( $CV = 23,0-79,5\%$ ) en todos los protocolos. Finalmente, las UFC fueron consistentes entre protocolos llevados a cabo en el mismo laboratorio, mientras que el número conidios totales sólo fue consistente en 2 laboratorios, sugiriendo que el factor laboratorio fue más influyente que el protocolo utilizado. Este resultado, sumado a la variabilidad encontrada en UFC y número conidios dentro y entre laboratorios, plantea la necesidad de realizar un taller en el que integrantes de todos los laboratorios implementen los 3 protocolos y evalúen los puntos de conflicto.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO SOBRE LA TOLERANCIA A LA LUZ DE *Azospirillum brasilense* Az39Molina R, Monzón L, Gualpa J, Cassán F

Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. Argentina

Email: fcassan@exa.unrc.edu.ar

La luz es una señal esencial que controla el crecimiento, desarrollo y comportamiento de muchos seres vivos, pero al mismo tiempo se considera una amenaza para la supervivencia de ciertos organismos aeróbicos debido a su capacidad fotooxidativa. El descubrimiento de proteínas fotorreceptoras en bacterias no fotosintéticas y su relación con el estilo de vida de tales organismos es un campo de estudio fértil dentro de la fotobiología. Trabajos previos de nuestro laboratorio confirman *in silico* la presencia de ciertas proteínas fotorreceptoras en el genoma de *A. brasilense* Az39. Por otro lado, sabemos que la exposición de Az39 a la luz blanca o azul, tiene un fuerte efecto inhibitorio sobre el crecimiento de esta bacteria. A pesar de toda la información disponible sobre este género bacteriano, sabemos muy poco sobre la capacidad de Az39 para adaptarse a las condiciones de luz y su relación con el estilo de vida rizosférico o la capacidad de promover el crecimiento vegetal. A partir de esto, se planteó como objetivo de este trabajo, evaluar si el efecto inhibitorio de la luz blanca o azul podría depender de la fuente nutricional en el que *A. brasilense* Az39 se desarrolla. Para ello, cultivos puros de Az39 fueron mantenidos hasta fase exponencial de crecimiento en medio mínimo (MMAB) o rico (LB) y una vez alcanzada esta fase de desarrollo, correspondiente a una  $DO_{595}=1.0-1.2$ , se realizaron diluciones decimales hasta alcanzar una de  $10^{-7}$  de las que se sembraron 4 alícuotas de 20  $\mu$ l (diluciones  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$ ) en placas de Petri conteniendo medio MMAB con y sin adición de  $15\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  del indicador Rojo Congo y modificado por la adición de 25%, 30%, 35%, 40%, 45% y 50% (v/v) de medio LB, para su posterior recuento a través de la técnica de microgota. Las placas se incubaron de forma invertida a  $36\pm 2^\circ\text{C}$  durante 72 h en las siguientes condiciones: oscuridad; luz de día (60 w) y luz azul (PAR 38). Finalizado este período, se determinó la viabilidad celular [ $\text{ufc}\cdot\text{ml}^{-1}$ ] y se hizo un análisis de morfología de colonias en cada tratamiento. Nuestros resultados indican que en condiciones de cultivo en medio mínimo modificado por la adición de LB entre 25-45% y bajo exposición a luz blanca, existió un dimorfismo entre colonias lisas (L) y rugosas (R) en una relación numérica aproximada de 2:1; mientras que en el medio modificado con el 50%, las colonias se observaron en su totalidad del tipo R (borde irregular, secas y radiadas). Por otro lado, en placas incubadas bajo exposición a luz azul PAR38, solo se observó el desarrollo de colonias tipo L (borde regular, mucosas y de morfología uniforme). Estos resultados nos indican que en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes la bacteria cambia la morfología de sus colonias, modificando su tolerancia a la luz, lo que tendría una co-relación con la síntesis de componentes extracelulares.

OBTENCIÓN DE UNA MUTANTE DE *B. japonicum* E109 DEFICIENTE EN ACTIVIDAD PEROXIDASA Y EVALUACIÓN DEL CATABOLISMO DEL ACIDO INDOL-3-ACETICOTorres D<sup>1</sup>, Benavidez I<sup>1</sup>, Mongiardini E<sup>2</sup>, Quelas J I<sup>2</sup>, Cassán F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología Vegetal y de la Interacción Planta-Microorganismo. Universidad Nacional de Río Cuarto. <sup>2</sup>Laboratorio de Interacciones Rizobios y Soja. Instituto de Biotecnología y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Exactas-Universidad Nacional de La Plata.  
Email: fcassan@exa.unrc.edu.ar.

Cuando se produjo la expansión del cultivo de soja en Argentina, se introdujeron cepas seleccionadas de *Bradyrhizobium japonicum* de diferentes colecciones de todo el mundo. Luego de una extensiva evaluación, selección y re aislamiento de nódulos de soja, la cepa aislada fue renombrada E109. Hasta la fecha, *B. japonicum* E109 ha sido la única cepa recomendada por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) para la inoculación de soja debido a su capacidad para colonizar efectivamente la planta y fijar el nitrógeno atmosférico. Otro mecanismo descrito a nivel de la promoción de crecimiento vegetal involucra la biosíntesis de ciertas hormonas vegetales. *B. japonicum* E109 tiene la capacidad de catabolizar el ácido indol-3-acético (AIA). El catabolismo de esta hormona dependería de la actividad de una enzima aún no identificada y sería de carácter constitutivo para la bacteria. Dentro de las enzimas relacionadas con el catabolismo de AIA en plantas superiores, se han descrito ciertas peroxidasa, que además intervienen en la simbiosis, regulando la cantidad de AIA para la formación de los nódulos de leguminosas mediante el catabolismo de ésta hormona. En base a estos antecedentes fueron consideradas candidatas para este trabajo. Nuestro objetivo fue el de obtener una mutante de E109 deficiente en la enzima peroxidasa (EC.1.11.1.7) denominada *per* y evaluar su capacidad para degradar AIA, en comparación con la cepa salvaje E109. Para ello, se inocularon pre-cultivos de *B. japonicum* E109 y la mutante *per* en frascos de vidrio conteniendo 100 ml de medio EMA suplementado con 10 mg.l<sup>-1</sup> L-triptófano. Se incubaron a 30°C y 160 rpm en un agitador orbital hasta alcanzar una fase exponencial temprana de crecimiento (DO<sub>595</sub> 0.4-05). El cultivo se fraccionó en alícuotas de 5 ml en tubos de ensayo estériles y se adicionó de manera individual 200 µl de una solución de AIA (1 mg.ml<sup>-1</sup>). Los tubos se incubaron en las mismas condiciones experimentales y cada 2 horas desde la transferencia se evaluó la concentración de AIA (µg.ml<sup>-1</sup>) por espectrofotometría y cromatografía líquida. Los controles se llevaron a cabo adicionando iguales cantidades de AIA a tubos conteniendo medio de cultivo sin inocular. Todos los tratamientos y experimentos descritos se realizaron por triplicado. Nuestros resultados sugieren que *B. japonicum* E109 y la mutante de E109 *per* tienen actividad catabólica sobre el ácido indol-3-acético (AIA). A las 8 horas, luego de la inducción con la hormona, se pudo observar la degradación del al menos un 90% del compuesto en ambas cepas, sin mostrar diferencias significativas entre ambas cepas. A manera de conclusión, podemos mencionar que la cepa E109 de *B. japonicum* tiene capacidad de degradar ácido indol-3-acético al igual que su mutante deficiente en la enzima peroxidasa, demostrando que esta enzima no interviene en el mecanismo de la degradación de esta molécula.



## PROPUESTA PEDAGÓGICA PARA LA ENSEÑANZA DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL

Dediol C<sup>1</sup>, Farrando S<sup>1</sup>, Sánchez ML<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología, F.C.A, UNCuyo, Argentina. Email: cdediol@fca.uncu.edu.ar

La Universidad Nacional de Cuyo creó en 2004 la Carrera de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables (IRNR) en la Facultad de Ciencias Agrarias. Microbiología Ambiental (MA) es parte de la currícula de segundo año, con un promedio de 46 alumnos en los últimos cinco años. Desde el comienzo se dictó junto con Microbiología Agrícola e Industrial perteneciente a Ingeniería Agronómica, enseñándose por separado los temas teóricos propios de MA (40% del total) y se obtenía la regularidad aprobando tres parciales. A raíz del cambio del Plan de Estudios de IRNR en 2011, MA cuenta con la misma carga horaria de 60 h, pero pasó a formar parte de las tecnologías aplicadas y algunos de sus temas se trasladaron a Biología de primer año. Desde 2013 MA se dicta totalmente independiente y se propuso un cambio del espacio curricular persiguiendo los siguientes objetivos: fomentar el “saber hacer” en los alumnos; propiciar la evaluación continua e incentivar la asistencia a clases teóricas. Para alcanzarlos se hicieron modificaciones: En los trabajos prácticos se eliminaron tres generales cuyos contenidos más importantes se dan distribuido en otros y se incrementaron de ocho a diez. En las teorías se incorporaron temas nuevos y resolución de problemas. Los alumnos deben realizar un trabajo final con los integrantes de su comisión; el mismo está formado por una parte práctica, que consiste en aislar y estudiar un grupo microbiano a partir de una muestra ambiental y la búsqueda y discusión de un trabajo de investigación que trate de la aplicación de esos microorganismos. Al final del cursado presentan un resumen con diapositivas y una exposición oral a sus compañeros. Se reemplazaron los parciales por evaluaciones periódicas escritas en forma semanal de los temas dictados la clase anterior. El alumno alcanza la regularidad con asistir al 80 % de los prácticos, aprobar el 80% de las evaluaciones con el 60% y alcanzar el 60% en el trabajo final. Se incentiva al alumno que logra sumar más de 240 puntos en estas instancias a incrementar en un punto la nota de su examen final oral. Se realizó una encuesta al final del cursado en la que se preguntaba si era mejor, igual o peor la manera de evaluar en comparación al sistema tradicional de parciales y también podían expresar sugerencias y comentarios. Al evaluar esta reforma se comprobó una mayor asistencia a las clases teóricas con un excelente grado de participación como consecuencia del estudio semanal. En el año 2013 de 61 alumnos, quedaron libres el 16%, cifra menor al promedio del 28,4% de los cinco años anteriores. En la encuesta el 91 % contestó que era mejor la forma de evaluar. Los trabajos finales generaron entusiasmo por la materia y obtuvieron excelentes calificaciones. El 80% de los alumnos logró más de 240 puntos en la sumatoria de sus instancias evaluativas. Este año se dicta por tercera vez MA con estos cambios, que siguen mejorándose.

EFECTOS DE LA INOCULACIÓN CON *Serratia sp.* SOBRE MAÍZ TARDÍO BAJO DIFERENTES NIVELES DE FERTILIZACIÓN A CAMPO

Curá JA, Ancarola M, Gruz NA, Idone LT

Cátedra de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Avenida San Martín 4453 C1417DSE. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Email: acura@agro.uba.ar

En la región pampeana el cultivo de maíz se ha implantado tradicionalmente en siembras tempranas (Septiembre-Octubre) en secuencias donde el cultivo antecesor generalmente es soja. En los últimos años, esta tendencia está cambiando haciéndose más frecuentes las siembras tardías. Para tal fin, se requieren óptimas condiciones de manejo de las prácticas agrícolas, manteniendo la fertilidad del suelo para tener un sistema sustentable, y es allí donde la inclusión de microorganismos benéficos juega un rol clave. Entre ellos está el género *Serratia* que no ha sido muy estudiado, particularmente en condiciones de campo. El objetivo del trabajo consistió en evaluar el efecto sobre el rendimiento, y uno de sus componentes (número de granos) en un cultivo de maíz inoculado con *Serratia* sembrado en Diciembre y con diferentes niveles de fertilizante fosforado. El ensayo se realizó en el establecimiento San Felipe, del partido de San Andrés de Giles (Provincia de Buenos Aires), en un suelo Argiudol Vértico y con bajos niveles de fósforo disponible (aproximadamente 6-8 ppm). Se realizó un diseño factorial con dos factores. El primer factor denominado "Tratamiento", compuesto por 2 niveles, siendo ellos: a) semillas sin inocular (Testigo), y b) las semillas inoculadas con *Serratia* (Inoculado). El segundo factor, denominado "Dosis", compuesto por tres niveles de fosfato diamónico (PDA), siendo éstas de 0, 50 y 100 kg/ha. Se realizaron 3 repeticiones. La semilla utilizada fue el híbrido simple ACA 470 MGR2. La siembra se realizó el 28 de Diciembre de 2014, mediante el sistema de siembra directa a 0,52 m de distancia entre surcos. La densidad de plantas fue de 80000 pl/ha. La bacteria utilizada fue *Serratia plymuthica* (ATCC 53858). La cosecha se realizó de forma manual. Se analizaron: el rendimiento y uno de sus componentes (número de granos). El análisis de los datos se hizo mediante análisis de la varianza, utilizando el software infostat. Se cosecharon manualmente las espigas de 7 m<sup>2</sup> de cada parcela. El tratamiento Inoculado tuvo en promedio entre 3700 y 4200 granos/m<sup>2</sup> según los niveles de fertilizante, mientras que el Testigo de 2700 a 3000 granos/m<sup>2</sup>, mostrando diferencias significativas (Test de Tukey con un alfa 0,05). En cuanto al rendimiento, aunque no encontramos interacción entre bacteria\*fertilizante, sí observaron diferencias significativas (Test de Tukey con un alfa 0,05) entre el tratamiento Inoculado con 100 kg/ha de PDA contra todos los demás.

**Conclusión** Los resultados sugieren que la inoculación de maíz con *Serratia* podrían incrementar el número de granos por m<sup>2</sup>, el principal componente del rendimiento.

## CANTIDAD DE MICROORGANISMOS CELULOLÍTICOS Y NITRIFICADORES DE LA RIZÓSFERA DE CULTIVOS DE COBERTURA MANEJADOS CON GLIFOSATO

Jurcic E<sup>1</sup>, Escobar Ortega JS<sup>1</sup>, Biancotti A<sup>1</sup>, Acosta C<sup>1</sup>, García de Salamone IE<sup>1</sup><sup>1</sup>Facultad de Agronomía, UBA, Av. San Martín 4453 C.P.1417 CABA. Argentina; 54-11-45248061. Email: [jhovana@agro.uba.ar](mailto:jhovana@agro.uba.ar)

El aumento de la proporción de cultivos de soja en la rotación reduce el contenido de materia orgánica del suelo y afecta la calidad de los servicios ecosistémicos. Los cultivos de cobertura (CC) son una alternativa que mejora la calidad del suelo pero los efectos del uso de glifosato para interrumpir su crecimiento pueden alterar ciertas comunidades microbianas. Por ello, se evaluó la inclusión de los CC manejados con glifosato en un sistema agrícola con predominio de soja, sobre los microorganismos celulolíticos y nitrificadores de la rizósfera. Se condujo un ensayo en la localidad de Treinta de Agosto, Buenos Aires con un diseño factorial en parcelas divididas con bloques completos aleatorizados y tres repeticiones. Los factores fueron los siguientes: *i*) momento de muestreo [antes de la aplicación de glifosato (AG), 1 mes después de la aplicación de glifosato (DG) y a la cosecha de soja (CS)] *ii*) fertilización (0 y 7-40-0-5 (N-P-K-S)) y *iii*) tres niveles de CC [testigo sin cobertura, centeno (*Secale cereale* var. *Quehué*) y avena (*Avena sativa* var. *Aurora*)]. Se realizaron estimaciones del número más probable (NMP) de nitrificadores y celulolíticos sobre muestras de suelo rizosférico de las profundidades 0-20 y 20-40 cm. Se utilizaron microplacas estériles con 96 celdas con medios líquidos selectivos para cada grupo funcional y un periodo de incubación de 15 días a 30° C. El medio para celulolíticos contenía un círculo de papel de filtro estéril como única fuente de carbono y energía. Para nitrificadores el medio contenía sulfato de amonio como única fuente de N y estos se estimaron por la cantidad de nitratos determinada por la utilización de bandeletas comerciales calibradas. La cantidad de celulolíticos se estimó visualmente por la degradación y cambio de color del papel. Se aplicó análisis de varianza y comparación de medias según el test de Tukey (p 0,05) sobre los datos obtenidos. El momento de muestreo generó diferencias significativas en el NMP de celulolíticos y nitrificadores. En el primer caso, las muestras obtenidas en CS mostraron menores cantidades con respecto a las obtenidas AG y DG, sin diferencias entre sí. El NMP de nitrificadores DG fue menor que AG y CS, sin diferencias entre sí. Además como se esperaba, hubo más nitrificadores de 0-20 cm que en 20-40 cm de profundidad dado que estos microorganismos son en su mayoría aerobios estrictos. No hubo efectos de la fertilización sobre estos grupos microbianos. Ambas comunidades microbianas responden independientemente a los tratamientos aplicados. La dinámica de los celulolíticos no parece estar relacionada a los tratamientos aplicados, mientras la menor cantidad de nitrificadores en el muestreo DG podría ser debido al agregado del glifosato aunque las comunidades microbianas volvieron a sus NMP iniciales en CS, es decir que los cambios observados no son permanentes.

## EVALUACIÓN DE POTENCIAL ADITIVO DE ORIGEN NATURAL: EFECTO INHIBIDOR SOBRE BACTERIAS ALTERANTES Y PATÓGENAS

Farrando S<sup>1</sup>, Locatelli D<sup>3</sup>, Camargo A<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología. Facultad de Cs. Agrarias. UNCuyo. <sup>2</sup>Laboratorio de Cromatografía para Agroalimentos, Facultad de Cs. Agrarias UNCuyo. <sup>3</sup>IBAM-CCT- CONICET, Mendoza.  
Email: sfarrando@fca.uncu.edu.ar

Entre los distintos propósitos del sector agroalimentario se halla la necesidad de diseñar estrategias tendientes a considerar la calidad integral de los alimentos teniendo en cuenta factores que afectan el tiempo de vida útil y que poseen implicancias sobre la salud del consumidor. Estudios científicos demuestran que las especies vegetales, tales como Aliáceas y Brasicáceas, ostentan diversas propiedades entre las que se destacan las antimicrobianas. A tal punto que está siendo investigado su empleo como aditivos alimentarios naturales, acompañando la creciente demanda de los consumidores por alimentos con menor contenido de conservantes químicos. Entre la vasta bibliografía referida al tema se encuentra el efecto de extractos o aceites vegetales en estado fresco. Considerando que existe bibliografía y experiencias propias que dan cuenta que las propiedades microbicidas responden a la presencia de compuestos organoazufrados surgió la motivación de evaluar la actividad antibacteriana de extractos frescos de ajo, rúcula orgánica, rúcula comercial, brotes de rúcula, mostaza grande y mostaza chica contra bacterias alterantes y patógenas transmitidas por alimentos. Además, debido a que se conoce que los compuestos organoazufrados son lábiles e inestables y se transforman por calor durante la cocción, se determinaron las propiedades antibacterianas de los vegetales luego de ser sometidos a procesos de cocción; para así poder valorar su utilidad como potenciales aditivos en alimentos. Se preparó un extracto de cada uno de los vegetales frescos, lavados, desinfectados y prensados. Se evaluó el efecto inhibitor sobre el crecimiento de bacterias alterantes de alimentos, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus* y patógenos transmitidos por alimentos, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* y *Campylobacter jejuni*, pertenecientes a la Colección de Cultivos Microbianos de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo; mediante el método de difusión en agar. Se sembró un cultivo activo de cada cepa, por triplicado, sobre agar Infusión Cerebro Corazón con pocillos de 4 mm de diámetro, a los cuales se les agregó 20 microlitros de cada extracto y se incubó el sistema a 37 °C. Al cabo de 24 horas se midió el halo de inhibición. En el caso del ajo además se sometió a tratamientos de cocción hervido simmering -lento-, hervido rolling boil -energico-, frito y microondas y se evaluó su actividad inhibitoria de igual manera. El ajo crudo mostró inhibición del crecimiento de las bacterias analizadas, pero no así los extractos de rúcula y mostaza. Sin embargo el ajo cocido, ya sea hervido, frito o en microondas no presentó efecto antibacteriano. Por lo tanto se refuerza la utilidad del ajo como aditivo pero al estado fresco.

IDENTIFICACIÓN GENOTÍPICA DE AISLAMIENTOS DE *Azospirillum* A TRAVÉS DE DIFERENTES MÉTODOS

García JE<sup>1</sup>, Maroniche GA<sup>2,3</sup>, Creus C<sup>3</sup>, Peticari A<sup>1</sup> y Groppa MD<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA), INTA-Castelar. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET). <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP). <sup>4</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. IQUIFIB, CONICET. Email: garcia.julia@inta.gob.ar

La secuenciación parcial del ARNr 16S es una herramienta que ha sido ampliamente empleada para el reconocimiento de géneros bacterianos; sin embargo, presenta limitaciones para discriminar grupos muy emparentados como especies y cepas por su lenta evolución; y su variabilidad intergénica entre las diferentes copias del genoma puede conducir a conclusiones inconsistentes. Otros genes pueden ser utilizados como alternativa, por ejemplo Mulet et al. (2009) reportaron al *rpoD* como apropiado para un genotipado de aislamientos en el género *Pseudomonas* por su mayor tasa de evolución y grado de discriminación que el ARNr 16S. Para la discriminación a nivel cepa se utilizan técnicas como el REP-PCR, RAPD, entre otras.

El objetivo fue identificar genotípicamente 4 aislamientos de *Azospirillum sp.* pertenecientes a la Colección BPCV, IMYZA- INTA, utilizando diferentes métodos: secuenciación parcial del ARNr 16S, secuenciación parcial del gen *rpoD*; y por BOX-PCR evaluar si los aislamientos corresponden a cepas diferentes. Para la secuenciación del ARNr 16S y para la BOX-PCR se utilizaron primers universales y para el *rpoD* se diseñaron primers específicos a partir de las secuencias genómicas de miembros del género disponibles. Las secuencias obtenidas se compararon con las depositadas en la base de datos pública GenBank y se realizó un análisis filogenético con secuencias de cepas de referencia utilizando el método Maximum Likelihood. Las huellas genéticas del BOX-PCR se analizaron utilizando el software PyElph y se construyó un árbol filogenético con el método UPGMA. Según el análisis filogenético tanto del ARNr 16S como del *rpoD*, Az19, Az3 y Az63 pertenecen a *A. brasilense* que incluye a Sp7 (cepa tipo) y Az39. Si bien estos dos métodos mostraron un alto grado de similitud entre Az19 y Az39, del análisis del BOX-PCR se puede observar diferente patrón de bandas sugiriendo que son diferentes cepas. Respecto a Az8 se observa una discrepancia entre el uso del *rpoD* y del ARNr 16S para definir su taxonomía. En el primer caso, Az8 presenta un alto grado de similitud a la cepa tipo de *A. dobereineriae* mientras que, cuando se compara el ARNr 16S, presenta mayor similitud *A. brasilense*. Concordantemente, en el análisis por BOX-PCR Az8 presentó un patrón de bandas marcadamente diferente al resto de las cepas que parecen estar más relacionadas entre sí.

El empleo de la secuenciación del *rpoD* permitió una discriminación más profunda de los aislamientos que el ARNr 16S. Si bien el BOX-PCR también permitió una mejor discriminación, es una técnica más laboriosa y limitada ya que demanda la inclusión de cepas de referencia en cada corrida. Como limitante existe actualmente poca disponibilidad de secuencias de *rpoD* de diferentes especies de *Azospirillum*. En este sentido, la paulatina publicación de nuevas secuencias de *rpoD* de otros miembros del género permitirá contar con una herramienta confiable para la identificación de nuevos aislamientos de *Azospirillum*.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE *Lactobacillus* DE POLLOS CON POTENCIAL PROBIÓTICO

Alonso MZ<sup>1</sup>, Romanelli A<sup>1</sup>, Libonatti C<sup>1</sup>, García MC<sup>1</sup>, Sansinanea A<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. Email: garciamace65@gmail.com

Las bacterias del género *Lactobacillus* pertenecen al grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL). Se caracterizan por ser Gram positivas, catalasa negativas y son capaces de producir ácido láctico a partir de carbohidratos como el mayor producto final de la fermentación de azúcares. Una de las alternativas de utilización de las mismas en producción animal, es el empleo como probióticos para mejorar entre otras la funcionalidad del intestino y estimular el sistema inmunitario.

El objetivo de este trabajo fue aislar bacterias del género *Lactobacillus* a partir de íleon de pollos y determinar su potencial probiótico.

Los ensayos se llevaron a cabo en la Sala de Necropsia y en el Laboratorio de Fisiología Celular de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA. Se sacrificaron 36 pollos de 6 y 53 días de edad y se extrajo el íleon de cada uno de ellos. Las muestras fueron transportadas en condiciones de refrigeración hasta la llegada al laboratorio. Se realizaron hisopados y se incubaron en caldo MRS en condiciones de microaerofilia durante 48hs a 37°C. Posteriormente se guardó una alícuota de los cultivos y se conservó a -70°C con 30% de glicerol para su futuro aislamiento.

A partir de cada una de las muestras congeladas, se realizó una siembra en estrías en agar MRS y se incubó en condiciones de microaerofilia a 37°C durante 48hs, para obtener bacterias aisladas. Se caracterizó según morfología de colonias, tinción de Gram, pruebas bioquímicas básicas (catalasa, siembra en agar nitrato y en caldo MRS modificado) y fermentación de diferentes azúcares.

Para determinar el potencial probiótico, las cepas se sometieron a condiciones gástricas simuladas *in vitro* tales como sales biliares (1,5%), pH (2, 4, 5, 6.5) y temperatura (15 °C, 37 °C y 45 °C).

Del total de las muestras procesadas se aislaron 5 colonias que presentaron características fenotípicas del género *Lactobacillus*. Todas fueron Gram positivas, catalasa negativa, homofermentativas, nitratos negativas, no fermentaron la glucosa y las colonias presentaron diferentes morfologías. Todas las cepas crecieron a diferentes temperaturas y resistieron la concentración de sales biliares, sin embargo solo una creció a pH2.

Los resultados obtenidos alientan a futuros ensayos ya que si bien una de las cepas resistió el pH más bajo, las restantes presentaron viabilidad frente a las condiciones gástricas simuladas. Posteriormente estas cepas con características probióticas serán enfrentadas a microorganismos patógenos posibilitando una futura aplicación en la producción avícola incrementando la performance productiva.

## AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL EN SUELOS HORTÍCOLAS

Rossi L<sup>1</sup>, Querejeta G<sup>2</sup>, Vullo DL<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>Área Microbiología, Depto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA), Pab. II, Piso 4, Ciudad Universitaria, (1428) Buenos Aires, <sup>2</sup>Área Química, Instituto de Ciencias, Universidad Nacional de General Sarmiento. Los Polvorines, Buenos Aires, Argentina.

Email: [gquereje@ungs.edu.ar](mailto:gquereje@ungs.edu.ar)

La producción hortícola es una de las actividades que fue progresando en el periurbano bonaerense, con la característica de que involucra el uso de plaguicidas en forma manual e intensiva. Estos productos se incorporan al suelo sufriendo diferentes procesos bióticos y abióticos, reconociéndose interacciones con los microorganismos y los constituyentes del suelo. Las rizobacterias estimulan el crecimiento vegetal (RPCV) mediante la fijación de N<sub>2</sub>, solubilización de fósforo insoluble, producción de sideróforos o fitohormonas. El uso indiscriminado de agroquímicos puede afectar en forma negativa a las RPCV incluyendo el mantenimiento de la fertilidad del suelo. El objetivo de este trabajo fue verificar la actividad promotora de crecimiento vegetal en bacterias autóctonas para mejorar la fertilidad de los suelos mediante procesos de bioaumentación.

Se muestrearon suelos de dos huertas (Yucra y Severino), dedicadas al cultivo intensivo de frutas y verduras, en Cuartel V (Moreno, Buenos Aires). Los productos aplicados eran cihalotrina, deltametrina, abamectina e iprodione. Los muestreos se planificaron estacionalmente. Primeramente se efectuó un recuento de microorganismos cultivables en Agar Suelo formulado con suelos de las huertas y de referencia con y sin 0,1% de la mezcla de formulaciones comerciales utilizadas por los productores. Los resultados demostraron que la población cultivable de Severino fue más susceptible a la presencia de plaguicidas, hecho relacionado con la menor carga de materia orgánica que reveló el análisis fisicoquímico. Yucra y el suelo de referencia no experimentaron cambios significativos en los recuentos. Se aislaron microorganismos sobre los cuales se testeó la capacidad de: fijación de N<sub>2</sub> en medio Burk, solubilización de fósforo insoluble en agar Pikovskaya, liberación de ácido indolacético (AIA- reactivo de Salkowsky en caldo tripton) y liberación de sideróforos en Agar CAS. Estos ensayos se realizaron, para el caso de los dos primeros, en presencia de los plaguicidas. Se aislaron varias colonias resistentes a los productos utilizados, de las cuales solamente seis evidenciaron la capacidad de solubilizar fosfatos. Las mismas fueron productoras de AIA tanto en ausencia o presencia de plaguicidas (8µg/mL DO<sub>600nm</sub>) y dos de ellas liberarían sideróforos. Sumado a esto, las cepas identificadas preliminarmente como *Burkholderia cepacia*, *Ochrobactrum anthropi* y *Photobacterium damsela* resultaron fijadoras de nitrógeno. En presencia de los plaguicidas, estos aislamientos no serían capaces de solubilizar fósforo aún con una fuente alternativa de carbono.

En conclusión, se obtuvieron bacterias resistentes a los productos de uso frecuente en los suelos estudiados con capacidad de ser promotoras de crecimiento vegetal. Estos datos abren la posibilidad de su aplicación como biofertilizantes, tanto en forma aislada como combinada, y mejorar la calidad de estos suelos tan agotados y de uso intensivo en la producción hortícola.

*Pseudomonas* RECOMBINANTES SOBREPDUCTORAS DE AUXINAS Y SU EFECTO EN RAICES DE TRIGO

Maroniche GA<sup>1,2</sup>, Peticari A<sup>3</sup>, Creus CM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), <sup>3</sup>Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA), INTA-Castelar. Email: gmaroniche@gmail.com

La deficiencia de fósforo (P) induce en las plantas un mecanismo adaptativo que involucra la acción de reguladores de crecimiento, como las auxinas, en las raíces. Para aliviar este estrés nutricional en los cultivos, el uso microorganismos es una alternativa sustentable a la fertilización química. Muchas rizobacterias son capaces de aumentar la biodisponibilidad de P por mecanismos de solubilización y mineralización del P fijado en el suelo a través de la secreción a la rizósfera de ácidos orgánicos y fosfatasas. Las rizobacterias pueden también mejorar la nutrición vegetal promoviendo el desarrollo radical mediante la síntesis de auxinas.

El objetivo del presente trabajo fue la obtención de cepas de rizobacterias con ambas características (solubilización de fosfatos y síntesis de auxinas), como herramienta para estudiar la complementación de ambos procesos y su impacto en la nutrición vegetal.

La cepa solubilizadora de fosfatos *Pseudomonas fluorescens* ZME4 fue modificada genéticamente para sobre-producir auxinas. Para ello, el operón *iaaM/H* (vía IAM) de *P. syringae* o el gen *ipdC* (vía IPyA) de *Azospirillum brasilense* Az39 fueron integrados en el cromosoma bacteriano de ZME4 usando el sistema de transposición Tn7, el cual minimiza posibles inestabilidades o recombinaciones genéticas. Las cepas recombinantes obtenidas ZME4M (*iaaM/H*) y ZME4I (*ipdC*) fueron confirmadas genotípicamente por PCR y fenotípicamente cuantificando la producción de auxinas. Finalmente, se inocularon semillas pregerminadas de trigo cv. BSY300 con  $10^8$  UFC·semilla<sup>-1</sup> de las cepas ZME4M, ZME4I y ZME4 (grupo control), y se cultivaron por 5 días en un sistema de hidroponía. Las plántulas obtenidas fueron examinadas para determinar el efecto de las cepas sobre el crecimiento de los diferentes componentes.

La inoculación con la cepa ZME4M indujo el acortamiento extremo de las raíces y el desarrollo de numerosos pelos. Este fenotipo clásico de hiperauxinidad no pudo ser evitado disminuyendo la concentración del inóculo. La cepa ZME4I generó un ligero acortamiento del sistema radical respecto a la salvaje y redujo significativamente la relación entre el largo de raíz y la altura de la plántula. Por otro lado, la relación entre el peso seco y el largo de la raíz se vio aumentada por esta cepa, indicando mayor biomasa radical. Si bien se requiere de un ajuste apropiado de la concentración del inóculo de ZME4I, las concentraciones de auxinas producidas por esta cepa son fisiológicamente más adecuadas.

En conclusión, se desarrollaron variantes sobreproductoras de auxinas de la cepa solubilizadora de fosforo *P. fluorescens* ZME4 capaces de modificar el crecimiento de las raíces de trigo. Nuevos experimentos para analizar el efecto de estas cepas en el sistema radical de plantas adultas y la captación de P develarán si existen efectos sinérgicos entre ambas características.



## SOBREVIVENCIA Y TOLERANCIA A AGROQUÍMICOS, COMO ELEMENTOS DE SELECCIÓN DE RIZOBIOS SIMBIONTES DE SOJA, PARA LA FORMULACIÓN DE INOCULANTES.

Lucentini G<sup>1</sup>, Pastorino G<sup>1</sup>, Balagué L<sup>1</sup>, Balatti PA<sup>1 2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP. <sup>2</sup> CIDEFI (Centro de Investigaciones de Fitopatología). Cátedra de Fitopatología. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP.Email: gnpastorino@gmail.com

La inoculación de la soja (*Glycine max* (L.) Merr) fue una tecnología que se introdujo en la Argentina junto con su cultivo. Los inoculantes fueron el vehículo de introducción de las cepas exóticas de *Bradyrhizobium*, que una vez incorporadas al suelo, se adaptaron y establecieron dando origen a las poblaciones de rizobios naturalizadas. Un programa de mejoramiento de la Fijación Biológica de nitrógeno (FBN) implica la selección de cepas evaluando la infectividad y efectividad en una instancia inicial. Sin embargo hay otras características claves para seleccionar cepas como la supervivencia y tolerancia a condiciones que provocan estrés, una de ellas es el empleo de agroquímicos que constituyen parte del paquete tecnológico actual. Estos productos suelen afectar la supervivencia de los rizobios, así como la nodulación y fijación de N<sub>2</sub>. En este trabajo se evaluó el comportamiento de diversos aislados simbiontes de soja obtenidos de suelos con historia de cultivo, en lo que hace a la tolerancia a los agroquímicos. Además se determinó la capacidad de los rizobios aislados para sobrevivir sobre la superficie de la semilla e infectar la raíz de soja. Se trabajó con 55 aislados de soja obtenidos a partir de muestras de suelo de la provincia de Santa Fe en la localidad de Runciman, con distinto historial de cultivo: suelos trabajados durante los 8 años con siembra directa y cultivo antecesor soja (SD), y por otro lado suelos con labranza convencional y cultivo antecesor maíz (LC). En el ensayo de tolerancia a curasemillas se evaluaron los siguientes agroquímicos: Cruiser 60 FS, Apron Maxx Advanced, Cruiser Plus, Sedaxane Vibrance, Apron Maxx RFC. Los mismos se formularon según las recomendaciones del fabricante, los mismos se embebieron discos de papel de filtro de 0,5 cm de diámetro con el fin de realizar pruebas in vitro. Luego se sembraron cajas de petri con una suspensión del cultivo bacteriano, determinándose la formación de halo de inhibición de crecimiento alrededor de cada disco de papel. Dicho halo se consideró un indicador de la sensibilidad de la cepa al producto químico ensayado. Para el ensayo de supervivencia e infectividad se inocularon semillas de soja con cada aislamiento y estas se colocaron en potes plásticos en donde se almacenaron en oscuridad a 21°C, por 7 días. Posteriormente se sembraron dos semillas inoculadas en macetas y cosechándose las plantas a los 20 días, se evaluó la ubicación y nº de nódulos. Se observó que todos los aislados toleraron los agroquímicos evaluados en las dosis recomendadas y que los mismos mostraron distinta capacidad infectiva y supervivencia sobre la semilla. El 17% de las cepas SD se diferencian de E109, que es la cepa control, produciendo un mayor número de nódulos. Debido a que las poblaciones naturalizadas pueden ser una importante fuente de rizobios con características superiores para la fabricación de inoculantes, es necesario continuar con las evaluaciones de la supervivencia, tolerancia, competitividad y promoción del crecimiento vegetal de rizobios naturalizados para emplearlos como biofertilizantes.

ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD SOLUBILIZADORA DE FÓSFORO A BAJAS TEMPERATURAS DE *Pseudomonas extremaustralis*, UNA BACTERIA ANTÁRTICAIbarra JG<sup>1</sup>, Lopez NI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UBA, IQUIBICEN-CONICET. Email: ibarrajoseg@gmail.com

El fósforo (P) es uno de los nutrientes que limita el crecimiento vegetal. El P total ocurre en forma orgánica o inorgánica, siendo el fitato y los fosfatos minerales insolubles las principales formas de P orgánico e inorgánico en suelo, respectivamente. Estos compuestos no son asimilables para los vegetales por lo que los microorganismos desempeñan un papel fundamental para suministrar P a partir de estas fuentes, contribuyendo a incrementar el rendimiento de los cultivos. Por otra parte, la extensión de las áreas de cultivo a regiones más agrestes hace necesaria la búsqueda de microorganismos que incrementen la disponibilidad de P y otros nutrientes y sean capaces de prosperar en esas condiciones. En este trabajo se analizó la capacidad solubilizadora de P orgánico e inorgánico en dos cepas de *Pseudomonas* a baja temperatura (4°C). Se trabajó con *P. protegens* Pf5 una bacteria promotora del crecimiento vegetal y *P. extremaustralis*, aislada de una charca temporaria de la Antártida que presenta características relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal y es capaz de colonizar la raíz de trigo y maíz. Los ensayos se realizaron en placas de Petri de 90 mm conteniendo medio NBRIP con fosfato tricálcico Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> o con fitato de Ca, como fuente de P inorgánica u orgánica, respectivamente. Las placas se sembraron inoculando gotas (5 µl) de cultivos overnight (DO=5) de cada cepa y se incubaron 10 d a 4°C por triplicado. Se realizaron controles a 28°C.

También se analizó la solubilización de P inorgánico en medio líquido. Los cultivos se realizaron en Erlenmeyers de 125 ml y con agitación (200 rpm). Se tomaron muestras a las 24, 48 y 72 h, que fueron utilizadas para el recuento de bacterias (UFC/ml), la medición de P soluble (fosfato) con el kit *fosfo test* (Merck) y de ácidos orgánicos por HPLC.

En los cultivos líquidos la producción de ácido glucónico se incrementó en ambas cepas en asociación con el aumento del P soluble. Se detectó la producción de otros ácidos, como el propiónico, que se encontró en mayor cantidad en los cultivos de *P. extremaustralis*. El fosfato libre en el medio de cultivo varió de 500 a 700 mg P/l.

En el ensayo en placa se observaron diferencias significativas en el halo de solubilización entre las cepas a 4°C con ambas fuentes de P (P<0,001) indicando que *P. extremaustralis* solubiliza más P a bajas temperaturas con respecto a *P. protegens* Pf5. En experimentos a 28°C ambas cepas presentaron igual capacidad solubilizadora (P>0,05) y no se observaron diferencias significativas (P>0,05) al comparar *P. extremaustralis* a 4°C y a 28°C, indicando que mantiene una buena capacidad solubilizadora a diferentes temperaturas.

Estos resultados basados en la solubilización de P, muestran que la exploración de cepas procedentes de ambientes extremos, como *P. extremaustralis*, puede ser de utilidad para encontrar promotores de crecimiento vegetal con capacidades mejoradas en comparación con las cepas tradicionales.

SOLUBILIZACIÓN DE DISTINTAS FUENTES FOSFATADAS POR *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 Y SUS MUTANTES DEFICIENTES EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS

Delaporte Quintana, PAG<sup>1</sup>, Lovaisa NC<sup>1</sup>, Guerrero-Molina MF<sup>1-2</sup>, Amigo JA<sup>1</sup>, Salazar SM<sup>1-3</sup>, Teixeira KRS<sup>4</sup>, Pedraza RO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía y Zootecnia-Universidad Nacional de Tucumán. <sup>2</sup>Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO)-CONICET. <sup>3</sup>Estación Experimental Agrícola INTA-Famailá, Tucumán. <sup>4</sup>EMBRAPA-Agrobiología. Seropédica. Rio de Janeiro. Brasil.  
Email: josefinaamigo1112@gmail.com

Después del nitrógeno, el fósforo (P) es el nutriente más importante y limitante en la producción agrícola. Si bien los suelos son generalmente abundantes en P, son deficientes en fosfatos que estén disponibles para el crecimiento de la mayoría de las plantas y microorganismos. Las formas solubles de los fertilizantes fosfatados son ampliamente aplicadas, pero el 75-90% precipita rápidamente, lo que conduce a efectos tóxicos o dañinos para el ambiente como la eutrofización de lagos y diques, con la consecuente muerte de la ictiofauna debido a la sobrepoblación de algas. Por lo tanto, convertir el P insoluble del suelo en disponible para las plantas es una necesidad para lograr producciones agrícolas sostenibles. Distintos trabajos muestran que *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 posee una vía oxidativa extracelular, también llamada oxidación no fosforilativa, por la cual la glucosa es oxidada a ácidos orgánicos fuertes que pueden disolver los fosfatos insolubles del suelo y dejarlos disponibles para la bacteria y la planta. Al hacer crecer la cepa PAL5 y 4 cepas mutantes de la misma deficientes en la producción de ácidos orgánicos, obtenidas previamente con Tn5 (A, B, C y D), con distintas fuentes fosfatadas, se pudo observar la capacidad de la PAL5 para solubilizar todas las fuentes de P, mientras que en las mutantes se obtuvieron resultados variables, incluida la no solubilización.

La densidad óptica de todas las cepas fue ajustada en 0,2 (560 nm); luego, 10 µl de cada cepa fueron sembrados por triplicado en medio Nbrp sólido pH 7, utilizando distintas fuentes de P insoluble en forma separada: fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, hidroxiapatita, Escorias Thomas, y fosfato de hierro. Al cabo de 96-120 h en estufa a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  se midió el diámetro de la colonia y del halo y se calculó el índice de solubilización (IS), desvío estándar y significancia estadística.

La cepa PAL5 y las cepas mutantes B y D fueron capaces de solubilizar todas las fuentes fosfatadas, siendo esto evidente por la formación de un halo claro alrededor de las colonias. La cepa mutante A no pudo solubilizar el fósforo presente en hidroxiapatita y Escorias Thomas, mientras que la mutante C no solubilizó el P en ningún caso. Además, PAL5 y la cepa mutante D mostraron los mayores IS. Así, se demuestra que la alteración en genes involucrados en la oxidación fosforilativa y otros procesos metabólicos de *G. diazotrophicus* PAL5 están relacionados con su capacidad solubilizadora de fosfatos.

INOCULACIÓN *EX VITRO* DE MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN PLANTAS MICROPROPAGADAS DE *Hancornia speciosa* Gomes

Cabral JSR<sup>1</sup>, Cassiolato AMR<sup>1</sup>, Ceribeli MGA<sup>2</sup>, Souchie EL<sup>2</sup>, Costa LNR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; <sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO. Email: jsrcabral@gmail.com

Como alternativa para estimular el enraizamiento de plántulas durante la etapa de aclimatación se pueden utilizar microorganismos solubilizadores de fosfato (MSF), que además de la solubilización de fosfato están relacionados con la síntesis de auxinas, giberelinas y citoquininas. La inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en esta etapa reduce el tiempo de enraizamiento, favorece su crecimiento, el aumento de la uniformidad y el desarrollo de brotes. La “mangaba” (*Hancornia speciosa* Gomes) se destaca entre los árboles frutales nativos del Cerrado brasileño, siendo una de las especies más promisorias en los programas de explotación sostenible. En este trabajo, se evaluó la inoculación *ex vitro* de MSF y *Glomus clarum* en plántulas micropropagadas de mangaba. Para esto, plantas de mangaba de tercer subcultivo de segmentos nodales, obtenidas a partir de semillas pre-establecidas *in vitro* fueron aclimatadas en el sustrato Bioplant<sup>®</sup>, que recibió cuatro tratamientos: MSF; HMA; MSF + HMA y un control no inoculado. El diseño experimental fue completamente al azar, con 4 tratamientos y 40 repeticiones, cada una constituida por un recipiente. A los 150 días, se evaluó la longitud media de la parte aérea y de la raíz principal, el número promedio de hojas, brotes, entrenudos, diámetro del tallo, volumen de raíz, masa fresca y seca de las hojas, tallo, raíces, porcentaje de supervivencia de las plantas y área foliar. Los promedios de estas variables se compararon mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). La inoculación de MSF produjo 62,5% de supervivencia de las plantas, mientras que en los tratamientos HMA y AMF + MSF se obtuvo 45 y 47,5% de la supervivencia de plantas, respectivamente. Para el número de entrenudos (7,78) y el área foliar (5,58 cm<sup>2</sup>), la inoculación con HMA produjo valores medios más altos. Por otro lado, la inoculación con MSF incrementó la masa fresca de hojas (3,19 g) y de raíces (3,59 g). La mayor longitud de raíz (15,52 cm) se obtuvo con la co-inoculación de HMA + MSF. Para las variables longitud de vástago, masa seca de hojas, masa fresca y seca total, la inoculación aislada con HMA y la co-inoculación de HMA + MSF generó los mayores valores. En conclusión, la inoculación con MSF proporcionó un mayor beneficio en la aclimatación de plantas micropropagadas de mangaba.

**Palabras clave:** solubilización de fosfato, hongos micorrízicos arbusculares, promoción del crecimiento vegetal, mangaba.

## CAMBIOS EN LAS COMUNIDADES FÚNGICAS DEL SUELO RELACIONADOS CON DIFERENTES HISTORIALES DE APLICACIÓN DEL GLIFOSATO Y SU DEGRADACIÓN

Hernández Guijarro K<sup>1</sup>, Aparicio VC<sup>1</sup>, de Gerónimo E<sup>1</sup>, Covacevich F<sup>2</sup>, Costa JL<sup>1</sup> Erijman L<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INTA EEA Balcarce, <sup>2</sup>CONICET-INTA, <sup>3</sup>INGEBI-CONICET.

Email: hernandez.keren@inta.gob.ar

El herbicida Glifosato es usado intensiva y extensivamente en Argentina como parte del paquete tecnológico cultivos transgénicos y siembra directa. En la región pampeana, su persistencia en diferentes matrices ambientales como suelo, agua y sedimento, refuerzan el interés por conocer su dinámica de degradación en el suelo y el aporte de las comunidades microbianas nativas a este proceso. El objetivo de este trabajo fue evaluar la dinámica de degradación del Glifosato en función de diferentes historiales de aplicación del producto y relacionarlo con el comportamiento de las comunidades fúngicas edáficas. Para ello se realizó un ensayo a campo en dos suelos de Balcarce sin historial de aplicación del herbicida y con historial de aplicación (más de 10 años de explotación agrícola). En ambos suelos (sin y con historial de aplicación) se diseñó un ensayo en bloques completos al azar con tres repeticiones; los tratamientos fueron: sin aplicación y aplicado a razón de 6 Lha<sup>-1</sup> de Glifosato comercial (DuPont®). Se tomaron muestras de suelo de 0-5 cm de profundidad, el día anterior a la aplicación y los días 1, 3, 5, 8, 16, 24 y 32 posteriores y se cuantificaron las concentraciones de Glifosato y su metabolito AMPA mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a un espectrómetro de masa triplecuadrupolo (UHPLC MS/MS). Paralelamente se determinó la variabilidad de las poblaciones fúngicas mediante el análisis de polimorfismos conformacionales de única hebra (SSCP) de los productos provenientes de la amplificación de la región ITS1F-ITS4 del gen del ARN ribosomal 28S, a partir del ADN extraído del suelo. El Glifosato fue degradado más rápidamente en el suelo con mayor historial de aplicación, disminuyendo a la mitad la concentración inicial en 5 días, mientras que el suelo sin historial tardó 24 días. En ambos suelos las concentraciones de AMPA aumentaron a lo largo del experimento, ocurriendo una disminución hacia el día 32 de cerca del 20%, respecto a los valores máximos detectados en cada caso. Al comparar la variabilidad genética de las muestras iniciales en cada sitio, se observaron composiciones diferentes de las poblaciones fúngicas, mostrando más variabilidad el suelo sin aplicaciones previas del herbicida. Se detectaron cambios temporales en los patrones de bandas de los suelos que recibieron el herbicida respecto a los controles, independientemente del historial previo de aplicación, y variaciones en la abundancia relativa de genotipos. Esto fue corroborado mediante los análisis de similitud de las matrices de distancia generadas a partir de dichos patrones. Los datos presentados indicarían la adaptación de las comunidades fúngicas a la aplicación de Glifosato y aportan indicios de genotipos relacionados con su degradación en el suelo.

EFICIENCIA SIMBIOTICA DE LA INOCULACIÓN CON *Glomus etunicatum* EN ESPECIES FRUTALES DEL CERRADOCosta LNR<sup>1,2</sup>, Cabral JSR<sup>2</sup>, Souchie EL<sup>1</sup><sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, GO,<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho. Email: lucas\_atx@hotmail.com

Una especie determinada de hongo micorrízico arbuscular (HMA) puede colonizar distintas especies vegetales, pero la eficiencia de esta combinación puede variar de acuerdo a la capacidad de dichos hongos para desarrollar una red de micelio extra-radical y aumentar la absorción de fósforo. Las poblaciones nativas de HMA pueden ser o no eficientes en la promoción del crecimiento vegetal. En determinado suelo, los HMA pueden estar en baja densidad o proporcionar una amplia colonización, sin mejorar el crecimiento de la planta hospedera. La inoculación con HMA puede estar asociada o no a otros microorganismos beneficiosos del suelo, especialmente los solubilizadores de fosfato (MSF). Los MSF aumentan la disponibilidad de fósforo en la solución del suelo, el que puede ser absorbido directamente por las raíces o hifas de los HMA, incrementando el crecimiento de las plantas. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia simbiótica de la inoculación con *Glomus etunicatum* en plántulas de “mangaba” (*Hancornia speciosa* Gomes) y “cagaita” (*Eugenia dysenterica*). Para esto se realizó un estudio en invernadero con cuatro tratamientos de inoculación (HMA, MSF, MSF + HMA y control) y dos sustratos (sustrato puro - textura franco arenoso y mezcla de suelos - franco arcillosos + arcilla). En los tratamientos inoculados con HMA se agregaron 3,3 g de inóculo y, para la inoculación con MSF, las plántulas a los 62 días después de la emergencia (DAE), fueron inoculadas con 1 mL de inóculo neto ( $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>) en cada plántula. El diseño experimental fue completamente al azar, en un factorial 4x2 (cuatro tratamientos de inoculación y dos sustratos). A los 216 DAE, las plantas fueron cosechadas y se evaluó la eficiencia simbiótica (ES), definida como la diferencia porcentual de producción de masa seca de parte aérea entre plantas micorrizadas o no micorrizadas. Los valores más altos de ES en plántulas de mangaba se obtuvieron en el sustrato mezcla de suelos, con la inoculación aislada de HMA (27,4%) y co-inoculación de HMA + MSF (40%). Para las plántulas de cagaita, las inoculaciones produjeron un efecto negativo independiente del sustrato utilizado. Por lo tanto, hubo mayor eficiencia simbiótica de la inoculación de *Glomus etunicatum* aislado o asociado con MSF en plántulas de mangaba en el sustrato mezcla de suelos. Por otro lado, en las plántulas de cagaita, la inoculación de *Glomus etunicatum* no fue beneficiosa lo que demuestra la necesidad de estudiar de forma individual la eficiencia de la inoculación sobre distintos potenciales hospederos.

**Palavra clave:** Hongo micorrízico arbuscular, solubilización de fosfato, promoción de crecimiento vegetal.

ACTINOBACTERIAS COMO POTENCIALES  
AGENTES DE BIOCONTROL Y PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL

Solans M<sup>1</sup>, Scervino JM<sup>1</sup>, Messuti MI<sup>1</sup>, Vobis G<sup>1</sup>, Wall LG<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Depto. Botánica, Centro Regional Universitario Bariloche – UNComahue, INIBIOMA-CONICET. Quintral 1250, (8400) S. C. Bariloche, Río Negro, Argentina., <sup>2</sup>Depto. Ciencia y Tecnología. Programa de Interacciones Biológicas. UNQuilmes, R. Saénz Peña 352, (B1876BXD) Bernal, Buenos Aires, Argentina. E-mail: marianasolans2005@hotmail.com

El desarrollo de una agricultura sustentable, que preserve los recursos naturales, requiere de la implementación de técnicas amigables con la naturaleza, como la aplicación de bioinsumos: biofertilizantes, fitoestimuladores y agentes biocontroladores. De esta manera, la aplicación de microorganismos promotores del crecimiento y biocontroladores, provee una alternativa eficiente para disminuir el empleo de agroquímicos, que dañan la calidad del suelo y condicionan los rendimientos de los cultivos a la degradación del ambiente. Las actinobacterias son un grupo heterogéneo de bacterias ampliamente distribuidas en la naturaleza, capaces de soportar condiciones desfavorables. Además, de ser colonizadoras eficaces de raíces, son buenas productoras de antibióticos, de diversos metabolitos secundarios, y degradan una amplia gama de biopolímeros, secretando varias enzimas hidrolíticas. En base a estas cualidades y a estudios previos sobre actinobacterias patagónicas que promovieron la nodulación y biomasa en plantas fijadoras de nitrógeno (N), se propuso: aislar, y seleccionar actinobacterias rizosféricas de *Lotus tenuis*, con características relacionadas con el biocontrol y promotoras del crecimiento vegetal.

Mediante diversas técnicas de aislamiento (diluciones, quimiotaxis y estampado) se obtuvieron 32 cepas de actinobacterias rizosféricas de *L. tenuis*, provenientes de suelos de la Cuenca del Río Salado (Provincia de Buenos Aires). Ocho cepas fueron seleccionadas en base a su capacidad de crecer en medio sin nitrógeno (NFb) y de producir ácido índol acético (AIA). Las mismas fueron evaluadas para diversas actividades fisiológicas relacionadas con el biocontrol como: la producción de enzimas extracelulares líticas, sideróforos, ácido cianhídrico (HCN) y actividad antagonica contra hongos fitopatógenos como *Cercospora* sp., *Macrophomia* sp., *Phomopsis* sp. y *Fusarium* spp. Otras actividades relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal, como la solubilización de fósforo inorgánico, utilización de aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) como única fuente de N, tolerancia a alcalinidad (pH 5-13) y salinidad (1,5-10% NaCl) fueron estudiadas.

Todos los aislamientos seleccionados presentaron inhibición del crecimiento, de al menos uno de los fitopatógenos estudiados. Las cepas de *Streptomyces* MM140 y MM146 mostraron antagonismo contra todas las cepas fúngicas, mientras que MM140 mostró los mayores porcentajes de inhibición para *Fusarium* spp. y *Macrophomina*. Además, presentó la mayor actividad relativa para la producción de fosfolipasas (A y C), y solubilización de P con 322 µg/ml (p = 0,05). La mayoría de los aislamientos produjeron sideróforos, aunque ninguno produjo HCN, ni crecieron a pH 4 y a 10% NaCl. *Streptomyces* MM136 fue la única capaz de crecer a pH13. Esta cepa y MM147 presentaron alta actividad lipasa y proteasa.

Estos resultados muestran el potencial de las actinobacterias como agentes de biocontrol y promotores del crecimiento vegetal.

ESTABLECIMIENTO DE LA ASOCIACIÓN MICORRÍCICA ARBUSCULAR EN PLANTAS DE MAÍZ GENÉTICAMENTE MODIFICADAS.

Colombo RP, Ibarra J, Statello M, Fernandez Bidondo L, Godeas AM

Laboratorio de Microbiología del Suelo, FCEyN, UBA, IBBEA, CONICET.

Email: marinastatello@hotmail.com

El uso de plantas genéticamente modificadas (GM) con fines comerciales se ha incrementado en la última década. Poco se ha estudiado acerca de los posibles efectos de estos cultivos sobre los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), microorganismos clave en el ecosistema del suelo. Este trabajo tiene como objetivo testear el efecto de distintas líneas de maíz GM, tolerante a estrés hídrico, sobre la infectividad de los HMA. Se utilizaron 5 líneas de maíz: 2 de ellas expresan el gen *hahb4* en homocigosis (3H y 4H), otras 2 fueron transformadas con dicho gen mas no lo expresan (2N y 4N), una línea *wild type* (B104) se utilizó como control.

Hahb-4 es un factor de transcripción (perteneciente a la familia HD-Zip) de girasol. Su expresión se regula por la disponibilidad de agua, el ácido abscísico y la salinidad del suelo. Cuando es sobrepresado inhibe la síntesis y percepción de etileno y ácido jasmónico, retrasando la senescencia de la planta.

Las semillas de maíz se esterilizaron y germinaron. 10 plántulas de cada línea fueron transferidas individualmente a maceta con suelo perteneciente a un sitio destinado al cultivo de maíz (Rio Cuarto – Córdoba) conteniendo inóculo de distintas especies de HMA: *Septoglomus viscosum*, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis coronatum*, *Gigaspora albida*, *Gigaspora margarita*, *Scutellospora fulgida* y *Scutellospora gregaria*.

Las plantas crecieron bajo 2 regímenes de riego, manteniéndose al 100% o al 30% de la capacidad de campo del suelo (CC). Después de 60 días de crecimiento se cesó el riego y se tomaron muestras de raíces para evaluar la colonización por HMA y el porcentaje de estructuras típicas de la micorrización (arbusculos, vesículas y puntos de entrada). Se tomó nota de los días transcurridos hasta la senescencia (DHS) de la planta como indicador de la tolerancia a la sequía. Se estimó la correlación entre los DHS y los porcentajes de micorrización.

Al finalizar la experiencia todas las plantas estaban micorrizadas. Los porcentajes fueron mayores en las plantas mantenidas a 30% CC que a 100% CC. Dentro de la misma línea de maíz el porcentaje de vesículas intraradicales de HMA (estructuras asociadas al estrés de la planta huésped) fue mayor en las plantas con mayor estrés hídrico, sin importar la línea de maíz. Los DHS variaron significativamente entre líneas cuando eran mantenidas al 100% CC, pero no se vio diferencia al 30% CC. No hubo correlación entre los DHS y los porcentajes de micorrización.

El efecto de plantas de maíz transgénicas tolerantes a estrés hídrico sobre los HMA no fue testado antes por ningún otro autor. Las diferencias en DHS no se relacionaron con la micorrización o la humedad del suelo sino con la línea de maíz. Nosotros concluimos que la infectividad de los HMA no se ve afectada por los eventos transgénicos testados en este trabajo y en las condiciones particulares utilizadas para el ensayo. Deberían testarse condiciones más drásticas de estrés y un tiempo más prolongado de ensayo.



IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS NATURALES DE *Conyza bonariensis* (RAMA NEGRA)  
POTENCIALES AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO

Formento AN<sup>1</sup>, Bonacci M<sup>2</sup>, Nesci A<sup>2,3</sup>, Barros G<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>INTA-EEA Paraná. Oro Verde, Entre Ríos. <sup>2</sup>Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. Email: gbarros@exa.unrc.edu.ar

El control inadecuado de malezas es uno de los principales factores relacionados con la disminución de la producción de cultivos extensivos. *Conyza bonariensis* también llamada “rama negra”, es una maleza que está ampliamente distribuida en la región pampeana argentina y de difícil control con la tecnología de uso actual. El objetivo del presente trabajo fue detectar e identificar patógenos naturales de *C. bonariensis* con la idea futura de desarrollar un bioherbicida que permita el control de la maleza en el marco de un manejo integrado. El relevamiento se realizó en campos experimentales del INTA-EEA Paraná a partir de abril de 2013 y 2014. Las plantas que mostraron síntomas de enfermedades en tallos y hojas fueron enviadas al laboratorio para el análisis macroscópico y microscópico de las lesiones y el aislamiento del posible agente patógeno. El aislamiento fúngico se realizó en placas de Agar Papa Glucosado (APG) suplementado con antibiótico y en placas de agar agua. La identificación morfológica se realizó en base a características culturales y microscópicas según Barnett y Hunter (1998). La identificación de las cepas a nivel molecular se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Ramathani *et al.* (2011) en base a cebadores de los fragmentos ITS 1 e ITS 4 del ADN ribosómico. El análisis de las plantas afectadas permitió detectar tallos con ocurrencia de antracnosis, con típicas lesiones levemente deprimidas y una coloración castaño claro diferente al verde normal de los tejidos sanos; mientras que en hojas, se observaron manchas similares a rombos de color púrpura-azulado con centro verde amarillento. El aislamiento a partir del tejido lesionado mostró que todos los aislados fueron agentes fúngicos pertenecientes a tres géneros: *Colletotrichum*, *Stemphylium* y *Phaeosphaeria*. Los análisis de secuencia de las regiones ITS del ADNr mostraron la presencia de dos especies de *Colletotrichum*, *C. gloeosporoides* y *C. capsici* y una especie del género *Stemphylium*, *S. vesicarium*. Sin embargo, el uso de dichas secuencias no permitió determinar la especie en el género *Phaeosphaeria*. Si bien las secuencias ITS son usadas ampliamente para la identificación fúngica, nuevos análisis multigénicos permitirán una identificación molecular más precisa. Dicha identificación junto a evaluaciones de patogenicidad en otras malezas y cultivos extensivos y su compatibilidad con distintos herbicidas químicos, nos permitirán saber si es posible la utilización de estos patógenos naturales como agentes de control de malezas en el marco de un manejo integrado.

## INTERACCIÓN ENTRE AIA Y NO DURANTE LA FORMACIÓN DE BIOFILM EN

*Azospirillum brasilense*Salcedo MF<sup>1</sup>, Lamattina L<sup>2</sup>, Creus CM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Nacional de Mar del Plata, CONICET. Email: flosalcedo81@gmail.com

*Azospirillum brasilense* pertenece al grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y es capaz de asociarse a las raíces de vegetales de importancia agronómica. Para lograr la efectiva colonización de la raíz es necesaria la formación de un biofilm bacteriano estable. Varios factores tanto endógenos como exógenos afectan la formación del biofilm y la colonización de las raíces. Entre los primeros, la producción por la bacteria de moléculas reguladoras como el Ácido-Indol-Acético (AIA) y el Óxido Nítrico (NO) podrían afectar la formación de este tipo de estructuras. Evidencias obtenidas previamente indican que el NO regula la formación de agregados y de biofilm en *A. brasilense* en sistemas *in vitro*, pero aún se desconoce si el AIA participa en estos procesos. Entre los factores exógenos la presencia de sal en el medio afecta la capacidad de agregación bacteriana, por lo que resulta interesante evaluar el efecto de la salinidad sobre la formación de biofilm en esta bacteria. El objetivo del trabajo fue estudiar si el AIA y el NO están involucrados en la regulación de la formación de biofilm de *A. brasilense* Sp245 en condiciones de estrés salino. Se utilizó *A. brasilense* Sp245 y sus mutantes isogénicas Faj164 (mutante *napA*, nitrato reductasa periplasmica negativa) deficiente en la producción de NO y Faj009 (mutante *ipdC*, piruvato decarboxilasa negativa) deficiente en la síntesis de AIA. Las cepas fueron crecidas en NFb-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> triptófano 100µM, con o sin 300mM NaCl, de forma estática en placas de 96 wells, durante 2 y 5 días a 32°C. Se determinó el crecimiento total espectrofotométricamente y la formación de biofilm con cristal violeta. La producción de AIA fue estimada por el método Salkowsky y la concentración de nitritos (forma indirecta de estimar la producción de NO) fue analizada usando un microelectrodo específico. Los resultados mostraron que Sp245 y Faj009 presentaron mayor formación de biofilm que Faj164 a los dos días. A este tiempo, tanto el biofilm de Sp245 como de Faj009 produjo nitritos, y bajos niveles de excreción de AIA. Por el contrario, en Faj164 no se detectó producción de nitritos y sí se observó un aumento en los niveles de AIA. A los 5 días todas las cepas aumentaron el biofilm, la producción de nitritos no se modificó en Sp245 y Faj009, mientras que en Faj164 se incrementó alcanzando los valores de la cepa salvaje. No se observaron diferencias entre las cepas en los niveles de AIA a los 5 días. Por otra parte, 2 días en condiciones de estrés salino provocó que todas las cepas formaran mayor cantidad de biofilm respecto de su control sin sal. Los resultados sugieren una interacción entre el AIA y el NO durante la formación de biofilm de *Azospirillum*.

INTERACCIÓN DE *Fusarium graminearum* Y *Fusarium poae* CON TRIGO Y CEBADAMartínez M<sup>1</sup>, Biganzoli F<sup>2</sup>, Stenglein SA<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Funcional y Biotecnología (BIOLAB-INBIOTEC-CICBA), Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, República de Italia N° 780, Azul CP 7300, provincia de Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Departamento de Métodos Cuantitativos y Sistemas de Información. Facultad de Agronomía, UBA, <sup>3</sup> Microbiología, Facultad de Agronomía, UNCPBA y CONICET. Email: stenglein@faa.unicen.edu.ar

*Fusarium graminearum* y *F. poae* son las especies de *Fusarium* más aisladas de granos de trigo y cebada a nivel nacional, pudiendo causar tanto daños cuantitativos (caída en los rendimientos) como cualitativos (presencia de toxinas) en estos cultivos. Considerando la actual importancia que tienen el trigo y la cebada en nuestros sistemas de producción y la amplia difusión de estos patógenos, se planteó como objetivo evaluar la interacción de *F. graminearum* y *F. poae* con cinco variedades de trigo pan y cinco variedades de cebada cervecera. El ensayo se llevó a cabo en la Chacra Experimental de la Facultad de Agronomía de Azul, durante la campaña 2014/2015. El diseño del experimento fue en parcelas divididas, con 4 repeticiones para cada combinación de tratamientos, donde en las parcelas principales se asignaron las cinco variedades de trigo (AGP Fast, León, Nutria, Pleno y Proteo,) y cebada (Andreia, INTA 7302, Scarlett, Scrabble y Shakira); mientras que en las subparcelas se aleatorizaron los inóculos (*F. graminearum*, *F. poae* y ambos *F. graminearum/F. poae*). La inoculación se realizó con una concentración de  $1 \times 10^5$  conidios/ml, cuando se alcanzó el 50% de anthesis (trigo) o cuando más del 50% de las espigas estaban emergidas (cebada). A los 20 días se realizó la evaluación de síntomas, para lo cual se seleccionaron 10 espigas al azar de cada tratamiento, calculando con ello la incidencia y la severidad. Cuando se alcanzó la madurez de los granos, se cosecharon las espigas de cada repetición y se trillaron manualmente, para luego evaluar los parámetros rendimiento (peso de mil granos) y poder germinativo. El porcentaje de proteína del grano se midió con un analizador NIT con monocromador de doble faz (Agricheck). En trigo, el análisis del ANOVA indicó diferencias estadísticamente significativas para la fuente de variación cultivar en las variables incidencia y severidad; para *F. graminearum* en las variables incidencia y severidad; para *F. poae* en la variable incidencia. Mientras que en cebada, solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las fuentes de variación *F. graminearum* y *F. poae* en la variable severidad. De esta manera, según los resultados obtenidos se pudo observar que la inoculación con ambas especies fúngicas en simultáneo (*F. graminearum/F. poae*) no produjo diferencias significativas en ninguna de las variables analizadas y que los cultivares de trigo y cebada responden de diferente manera a la inoculación con *F. graminearum* y/o *F. poae*, difiriendo en el grado de tolerancia/susceptibilidad.

## CARACTERIZACION DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL ASOCIADAS A CULTIVOS ORNAMENTALES

Toffoli LM<sup>1</sup>, Medrano NN<sup>1</sup>, Lovaisa NC<sup>2</sup>, Pedraza RO<sup>2</sup>, Martínez Zamora GM<sup>3</sup>, Salazar SM1<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Estación Experimental Agropecuaria Famaillá, INTA, <sup>2</sup>Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán, <sup>3</sup>Instituto Superior de Investigaciones Biológicas, INSIBIO-CONICET-UNT. Email: salazar.sergio@inta.gob.ar

El efecto de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB, de su sigla en inglés) en el crecimiento de plantas puede deberse a mecanismos directos: fijación biológica del nitrógeno atmosférico, producción de hormonas del crecimiento vegetal, solubilización del fósforo insoluble, producción de sideróforos, entre otros, y también a mecanismos indirectos: producción de sustancias que dañan o inhiben el desarrollo de agentes patógenos (ejemplo: producción de sideróforos). En Floricultura, disciplina orientada al cultivo de flores y plantas ornamentales con fines comerciales, se utilizan elevadas dosis de agroquímicos, nocivos para el ambiente, por lo que es cada vez mayor la necesidad de buscar alternativas a su uso, siendo, una de ellas, el uso de PGPB. Existen pocos trabajos referidos a aislamientos e identificación de PGPB asociadas a plantas ornamentales y su posterior uso. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue aislar y caracterizar morfológica, bioquímica y molecularmente, bacterias con posibles propiedades como bacterias promotoras del crecimiento vegetal, asociadas a plantas de petunia, unos de los plantines anuales de mayor comercialización en Argentina. Como material vegetal, se utilizó raíces de plantas de petunias extraídas de la EEA Famaillá, INTA (Latitud: 27° 03' S. Longitud: 65° 25' O, 363 m.s.n.m.). A las cepas aisladas se les realizó tinción Gram, se estudió movilidad y aspecto de la colonia. Se determinó producción de indoles totales ( $\mu\text{g}$  por mg de proteína) en medio de cultivo NFb, suplementado o no con triptófano, por el método colorimétrico utilizando el reactivo de Salkowski, y producción de sideróforos expresados en rendimiento de producción de sideróforo (% Ys) mediante la técnica universal del Cromo Azurol Sulfonato. Por último, para determinar la capacidad potencial de fijar nitrógeno, se realizó una amplificación por PCR de un fragmento del gen *nifD*, esencial en el proceso de fijación biológica del nitrógeno. En todas las determinaciones se utilizó como referencia *Azospirillum brasilense* REC3. Se obtuvieron 5 aislados asociadas a raíces de plantas de petunia: 2A1, 2A2, 2A3, 2C1 y 2E1. Los 5 aislados resultaron fueron Gram negativas, de formas bacilares y móviles al microscopio óptico por presencia de flagelos y formaron colonias de color rojo en medio NFb sólido adicionado con Rojo Congo. La producción de indoles totales ( $\mu\text{g}$  por mg de proteína) por parte del aislado 2A2 fue superior a la concentración del mismo producido por la cepa REC3, en un medio sin triptófano (0,09 y 0,04, respectivamente). A los 7 días, el aislado 2A1 presentó los mayores rendimiento de producción de sideróforos (% Ys) en comparación a la cepa de referencia (38,0 y 31,3, respectivamente). Además, los 5 aislados presentaron capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico. Estos aislamientos presentarían propiedades promotoras del crecimiento vegetal que deberán ser ensayadas en la producción de plantines ornamentales comerciales.

## EVALUACIÓN DEL EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DEL RESIDUO DE COSECHA DE LA CAÑA DE AZÚCAR SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CULTIVO Y EL DESARROLLO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS

Núñez MA, Tortora ML, Leggio Nemme MF, Digonzelli P

Sección Agronomía de la Caña de Azúcar, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes. Av William Cross 3150, Las Talitas, Tucumán, Argentina.  
Email: marialauratortora13@hotmail.com

En la actualidad, la industria azucarera mundial está reemplazando la quema del cañaveral previa a la cosecha por la cosecha de la caña en verde. Luego de la cosecha en verde queda en el campo una gran cantidad de Residuo Agrícola de Cosecha (RAC). Existen trabajos que indican que cuando el RAC se descompone, libera compuestos alelopáticos que pueden tener efectos inhibitorios sobre el crecimiento de malezas y de la propia caña de azúcar. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de distintas concentraciones de extractos acuosos de RAC sobre el crecimiento de la caña de azúcar y sobre el desarrollo de diferentes poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno asociadas al cultivo. Para la preparación de los extractos se recolectó residuo fresco de la cosecha de un cañaveral de la variedad LCP 85-384. El residuo se secó en estufa a 45 °C durante 24 hs. Se utilizó el procedimiento de agua fría utilizando agua destilada en proporciones (1:28) (agua/residuo). La extracción se llevó a cabo a 25 °C durante 4 hs, el residuo se filtró y se obtuvo el extracto puro. A partir de este se realizaron diferentes diluciones (100 %, 25 %, 10 %, 0,1 %, 0 %) (v/v), las cuales se conservaron en cámara fría a 7 °C y en oscuridad hasta su uso. Para los bioensayos, se partió de yemas pre-germinadas en cámara de brotación, las que fueron plantadas en macetas que contenían como sustrato el suelo característico de la localidad de donde se recolectó el RAC, y colocadas en un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones, en invernáculo bajo luz natural. Los plantines fueron regados diariamente durante dos meses con 150 ml de cada una de las diluciones. Cada quince días se registró la altura hasta hoja +1. A los sesenta días se tomaron muestras de raíces y de tallos para el recuento de microorganismos fijadores de nitrógeno en diferentes medios de cultivo semisólidos libres de nitrógeno: Nfb y LGI-P. Al analizar el crecimiento de las plántulas luego del riego con las diluciones de los extractos, se observó que hasta los treinta días posteriores a la plantación, la altura de las plantas tratadas con las diluciones 10 %, 25 %, y 100 % fue significativamente menor en comparación con las plantas regadas con la dilución 0,1 % y las regadas solo con agua. A partir de los cuarenta y cinco y hasta los sesenta días solo se observó una disminución significativa en la altura de las plantas regadas con la dilución 100 %. Resultados similares se obtuvieron al analizar las poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno de las plantas tratadas. En general, tanto en el medio LGI-P como en Nfb se observó que la población de microorganismos fijadores de nitrógeno, asociados a las raíces y a los tallos, disminuyó significativamente cuando las plantas se regaron con el extracto en la concentración de 100 % y 25 %, en comparación con los otros tratamientos evaluados. Los microorganismos capaces de crecer en el medio LGI-P, asociados a raíces y tallos, también presentaron una disminución del crecimiento cuando las plantas se regaron con extracto 10 %. Según estos resultados, se puede concluir que los extractos acuosos de RAC, en concentraciones mayores al 10 %, presentaron compuestos alelopáticos que afectaron negativamente tanto el crecimiento inicial de la caña de azúcar, como a las poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno asociados a las raíces y los tallos de las plantas.

RESPUESTA AL ESTRÉS SALINO DE SORGO AZUCARADO INOCULADO CON  
*Azospirillum brasilense*

Tortora ML, Courel G, López Guzmán J, Vera L, Grellet Naval N, Romero ER

Sección Agronomía de la Caña de Azúcar, Estación Experimental Agroindustrial Obispo  
Colombres. Av William Cross 3150, Las Talitas, Tucumán, Argentina  
Email: marialauratortora13@hotmail.com

El sorgo azucarado (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) es uno de los cultivos bioenergéticos más promisorios en la provincia de Tucumán, por ser complementario a la caña de azúcar y capaz de crecer en ambientes marginales. Una alternativa para incrementar su tolerancia frente a estrés abiótico, es mediante su interacción con bacterias promotoras del crecimiento (PGPB), como las del género *Azospirillum*. El objetivo de este trabajo es evaluar *in vitro* la capacidad de diferentes cepas de *A. brasilense*, para incrementar la tolerancia del sorgo azucarado frente a estrés salino. Se evaluaron dos cepas de *A. brasilense*: la cepa CABR1, aislada a partir de raíces de sorgo azucarado crecido en suelo de elevada salinidad (16,3 dS/m); y la cepa comercial Az39. La tolerancia de las cepas a la salinidad se evaluó según el crecimiento en el medio de cultivo Nfb suplementado con diferentes concentraciones de NaCl (0, 100, 200, 300, 400 y 500 mM). Para los bioensayos se utilizaron semillas del híbrido comercial Argensil 165Bio, pre-germinadas en cámara húmeda durante 24 hs a 30 °C y esterilizadas. La inoculación se realizó por imbibición de las semillas, durante 5 segundos, en una suspensión acuosa de cada una de las bacterias ( $10^6$  UFC/ml). Las semillas se colocaron en tubos conteniendo: i) solución de Hoagland diluida a la mitad de su concentración original con agar al 1 % (p/v) (control); ii) suplementada con NaCl 200 mM (22,2 dS/m); y iii) con extracto de saturación de suelo (8,78 dS/m). Los tubos se colocaron en estufa a 30 °C durante quince días. Se determinó el peso fresco de la plántula completa y se realizó el recuento de microorganismos fijadores de nitrógeno en el medio Nfb semisólido. Al evaluar la tolerancia de Az39 y CABR1 a la salinidad, se observó que ambas disminuyeron su crecimiento en presencia de NaCl. Sin embargo, a concentraciones de NaCl mayores a 200 mM, la cepa CABR1 presentó un crecimiento que fue significativamente mayor al de la cepa Az39. Al analizar el crecimiento de las plántulas sin inocular, se observó que cuando crecieron en solución de Hoagland diluida y agar 1 % (p/v), el peso fresco promedio fue de 0,207 g, mientras que cuando crecieron en la misma solución suplementada con NaCl 200 mM y extracto de saturación, el peso fresco promedio disminuyó significativamente a 0,053 g y 0,060 g, respectivamente. Resultados similares se obtuvieron cuando las semillas se inocularon con la cepa CABR1. Sin embargo, cuando se inocularon con la cepa Az39, el peso fresco promedio de las plántulas crecidas sobre solución de Hoagland y agar 1 % (p/v) fue de 0,198 g, mientras que cuando esta solución se suplementó con NaCl 200 mM y con extracto de saturación, los pesos promedios fueron 0,133 g y 0,150 g, respectivamente. En este caso las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas. Los recuentos promedio de bacterias fijadoras de nitrógeno en las plántulas inoculadas con Az39 y con CABR1 fueron de  $1,4 \times 10^7$  NMP cel/g y de  $1 \times 10^8$  NMP cel/g, respectivamente. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la cepa CABR1 presenta una mayor tolerancia a la salinidad en comparación con Az39; sin embargo al analizar la colonización de las plántulas de sorgo en presencia de NaCl 200 mM y extracto de saturación (8,78 dS/m), las dos cepas presentaron valores de recuentos similares. Solo la inoculación de las semillas con la cepa Az39 incrementó la tolerancia de las plántulas frente a estrés salino, estas plántulas presentaron un crecimiento aéreo y radicular similar al de las plantas control.

## VERMICOMPUESTO Y MICROORGANISMOS PGPRS: USO EN EL CULTIVO DE TOMATE Y DE ZAPALLO

Villar Ramírez NE<sup>1\*</sup>, Gómez AL<sup>1</sup>, Ojeda FN<sup>1</sup>, Salto E<sup>1</sup>, Iglesias MC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias – UNNE. Sargento Cabral 2131 CP 3400, Corrientes. Tel./fax:+54(379) 4427589 int. 158 - Facultad de Ciencias Agrarias – UNNE, Email:nataliavillarramirez@gmail.com

El vermicompuesto es un material rico en materia orgánica, nutrientes, humedad y con alta carga microbiana que puede ejercer una actividad de promoción del crecimiento y que incluso se puede enriquecer al ser inoculada con microorganismos rizosféricos promotores del crecimiento vegetal. El objetivo de este trabajo fue evaluar la acción de microorganismos promotores del crecimiento inoculados al sustrato suelo-lombricompuesto en los cultivos de tomate y zapallo. Para obtener el cultivo, se utilizaron plantines de tomate (*Solanum lycopersicum*), semillas de zapallo (*Cucurbita máxima*), suelo arenoso típico de la provincia de Corrientes y lombriabono obtenido a partir de residuos de desmotado de algodón. Se realizaron inoculaciones con *Azotobacter sp.* y *Azospirillum brasilense* empleando dos técnicas, una en la cual se realizó el aporte de los microorganismos al vermicompuesto previo a la mezcla con el suelo (s) y en la otra se inoculó mediante riego a la mezcla suelo-lombricompuesto (r). Los ensayos se realizaron completamente aleatorizados con 16 tratamientos y 3 repeticiones. Los tratamientos fueron: Testigo (suelo solo - T0), lombricompuesto en dosis equivalentes a 20 t.ha<sup>-1</sup> (TL<sub>1</sub>); 40 t.ha<sup>-1</sup> (TL<sub>2</sub>); 60 t.ha<sup>-1</sup> (TL<sub>3</sub>) t.ha<sup>-1</sup>, lombricompuesto en dosis equivalentes a 20; 40; 60 t.ha<sup>-1</sup> inoculado con *Azotobacter sp.* (TLA<sub>1s</sub>, TLA<sub>2s</sub>, TLA<sub>3s</sub>, TLA<sub>1r</sub>, TLA<sub>2r</sub>, TLA<sub>3r</sub>) y *A. brasilense* (TLAb<sub>1s</sub>, TLab<sub>2s</sub>, TLab<sub>3s</sub>, TLab<sub>1r</sub>, TLab<sub>2r</sub>, TLab<sub>3r</sub>). En ambos cultivos se controlaron semanalmente las variables: altura de plantas y N° de hojas. En zapallo además se determinó diámetro de hoja y N° de flores abiertas. Finalizado el ensayo se determinó: peso seco del vástago (PSV), peso seco de raíz (PSR) y peso seco total (PST) y en tomate también se evaluó: N° de fruto (NF), volumen de fruto (VF), peso del fruto (PF) y volumen de raíz (VR). A los resultados obtenidos se les realizó ANOVA y comparación de medias por el Test de Tukey (p<0,05). En tomate, las variables altura, N° de hojas, NF, PF, VF se evidenciaron los mayores resultados con TLab<sub>2r</sub> diferenciándose estadísticamente del resto de los tratamientos. En zapallo los tratamientos que fueron inoculados con *Azotobacter sp.* al momento de la mezcla suelo-lombricompuesto fueron los que evidenciaron mayores resultados, para los parámetros: altura, N° de hojas y flores abiertas no diferenciándose estadísticamente del resto de los tratamientos pero si del T0. En tanto, PSV, PSR, PST, VR (tomate) y diámetro de hoja (zapallo), mostraron valores superiores con los tratamientos donde se realizó inoculación con *A. brasilense*, mediante la técnica del riego, sin diferencias estadísticas significativas con respecto a los restantes tratamientos pero si frente al T0. En estos ensayos se pudo comprobar que la inoculación, de *Azotobacter sp.* y *A. brasilense* potenció el efecto benéfico del vermicompuesto sobre los cultivos evaluados.

SOLUBILIZACIÓN *IN VITRO* DE FOSFATOS INORGÁNICOS POR BACTERIAS  
ENDOFÍTICAS DE *Anacardium othonianum* Rizzini

Marques VO<sup>1</sup>, Faria PSA<sup>2</sup>, Silva FG<sup>1</sup>, Souchie EL<sup>1</sup>, Sales JF<sup>1</sup>, Cabral JSR<sup>3</sup>, Santana JG<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, GO,  
<sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás, <sup>3</sup> Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.  
Email: [vinicios\\_barra@hotmail.com](mailto:vinicios_barra@hotmail.com)

El fósforo (P) es un nutriente esencial para las plantas y un factor limitante en el desarrollo vegetal debido a su baja disponibilidad en los suelos. Por lo anterior, los microorganismos solubilizadores de fosfato (MSF) están entre los factores que mayor influencia presentan en el potencial de las plantas para absorber una mayor cantidad de P desde el suelo. Los microorganismos endófitos proporcionan algunas ventajas a la planta hospedera, como la capacidad de solubilización de P inorgánico, proporcionando de manera eficiente este nutriente a la planta. En este trabajo se cuantificó la solubilización de tres fuentes de fosfatos inorgánicos por bacterias endofíticas de *Anacardium othonianum* Rizzini. Los 23 aislados bacterianos endófitos de raíces de *A. othonianum*, con densidad óptica ajustada a 0,3 (600 nm de absorbancia) fueron inoculados en medio caldo nutritivo (peptona 5 g y extracto de levadura 3 g) con tres fuentes de fosfato (5 g L<sup>-1</sup> de CaHPO<sub>4</sub>, 1 g L<sup>-1</sup> de FePO<sub>4</sub>, 2 g L<sup>-1</sup> de AlPO<sub>4</sub>) y mantenidos bajo agitación constante por 72 horas a 30 °C. La solubilización de fosfato fue evaluada por el método colorimétrico de la vitamina C, en un espectrofotómetro a 725 nm, y las medias se compararon mediante la prueba Scott-Knott (p 0,05). El CaHPO<sub>4</sub> fue la única fuente solubilizada por 22 bacterias: *Brevibacillus agri* (16,36 mg L<sup>-1</sup>), *Enterobacter oryza* (717,58 mg L<sup>-1</sup>), *Pantoea agglomerans* (796,97 mg L<sup>-1</sup>), *Klebsiella pneumoniae* (898,79 mg L<sup>-1</sup>), *Enterobacter cloacae* (984,85 mg L<sup>-1</sup>), *Acinetobacter calcoaceticus* (1031,52 mg L<sup>-1</sup>), *Lysinibacillus sphaericus* (1085,45 mg L<sup>-1</sup>), *Stenotrophomonas nitritireduce* (1344,24 mg L<sup>-1</sup>), *Bacillus mycoides* (1432,73 mg L<sup>-1</sup>), *Bacillus pumilus* (1573,94 mg L<sup>-1</sup>), *Rhizobium tropici* (1602,43 mg L<sup>-1</sup>), *Acinetobacter pittii* (1641,82 mg L<sup>-1</sup>), *Serratia marcescens* (1749,09 mg L<sup>-1</sup>), *Bacillus megaterium* (1976,97 mg L<sup>-1</sup>), *Burkholderia nodosa* (1987,27 mg L<sup>-1</sup>), *Pseudomonas denitrificans* (2867,27 mg L<sup>-1</sup>), *Acinetobacter oleivorans* (3110,91 mg L<sup>-1</sup>), *Bacillus licheniformis* (3240,61 mg L<sup>-1</sup>), *Acinetobacter* sp. (3458,79 mg L<sup>-1</sup>), *Paenibacillus vortex* (3535,76 mg L<sup>-1</sup>), *Bacillus cereus* (3590,30 mg L<sup>-1</sup>) y *Enterobacteriaceae bacterium* (4009,09 mg L<sup>-1</sup>). En conclusión, las bacterias endófitas de *A. othonianum* poseen la capacidad de solubilizar fosfato inorgánico, siendo *Acinetobacter* sp., *P. vortex*, *B. cereus* y *E. bacterium* los aislados con mayor potencial de solubilización de CaHPO<sub>4</sub> *in vitro*. Los autores agradecen al Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, CNPq y CAPES por el apoyo financiero.

Palabras clave: “cajú-de-árvore-do-cerrado”, simbiosis, fósforo, promotor del crecimiento vegetal.



ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE UN GÉNERO NUEVO PARA ARGENTINA,  
*Laetisaria*

Marion F<sup>1</sup>, Rojo R<sup>2\*</sup>, Torres M<sup>2</sup>, Martínez MC<sup>3</sup>, Gasoni L<sup>2</sup>, Barrera VA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Morón, Cabildo 134, Morón, Bs As, <sup>2</sup>Insumos Fúngicos, IMyZA-INTA, <sup>3</sup>Instituto de Biotecnología, Las Cabañas y De los Reseros s/n, CC 25 (1712) Castelar  
Email: rojo.rodrico@inta.gob.ar

El género *Laetisaria* fue sancionado por Burdsall (1979) para describir aislamientos obtenidos de basidiocarpos con aspecto corticioide y anamorfos del tipo clavarioide, provenientes de Australia y Países Bajos. El género está constituido por 4 especies: *L. agaves* Burds. y Gilb., *L. arvalis* Burds., *L. fuciformis* (Berk.) Burds. y *L. lichenicola* Diederich. *Laetisaria arvalis* fue aislado a partir de restos vegetales en suelos agrícolas de EEUU y está caracterizado como agente de control biológico de fitopatógenos del suelo tales como *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum f. lycopersici*, *Pythium irregulare* y *Rhizoctonia solani*. Se trabajó con muestras de suelo de rotaciones de cultivos de cebolla en sistema de rotaciones de 15 años con monocultivo de cebolla en la EEA Hilario Ascasubi. Se obtuvieron aislamientos de hongos relacionados por ensayos *in vitro* de diluciones seriadas y trampas de glomérulos de acelga. Los estudios morfológicos de las cepas obtenidas consistió en cultivos en MEA, APG y SNA incubados a 25 °C durante 7 días. Se tomaron fotografías y se midieron las estructuras microscópicas con CoolSnap PRO. Se hicieron estudios de curvas de crecimiento incubando las colonias crecidas en MEA, APG y SNA a distintas temperaturas: 15 °C, 20 °C, 25 °C, 28 °C y 35 °C durante 96 horas y se midieron los radios de las colonias cada 24 horas por triplicado. Se realizaron extracciones de ADN genómico de las cepas obtenidas con método de precipitación con isopropanol. El ADN obtenido fue utilizado como molde para amplificar rDNA-ITS (Internal Transcribed Spacers), *tef1* (factor de elongación de la transcripción y beta-tubulina. Para identificar las cepas mediante análisis filogenético se alinearon las secuencias amplificadas junto con secuencias de referencia del GenBank con los programas BIOEDIT y MEGA 6. Se realizó un análisis filogenético con Máxima Parsimonia con NONA. Se calculó el soporte de ramas con análisis de bootstrap con 100 réplicas. Se estudiaron las interacciones con distintos patógenos en cultivos duales en APG y SNA y se midieron los radios de enfrentamiento de los patógenos a las 48 hs. Como resultado de los ensayos de aislamiento se obtuvieron 8 aislamientos con colonias de color rosado a castaño, con micelio estéril y esclerocios en la superficie. Entre los caracteres microscópicos se observaron fíbulas, cordones hifales simples (no entrelazados por hifas estrechas), hifas gruesas con hifas entrelazadas y secciones transversales de esclerocios. El análisis filogenético con el marcador ITS dió 100 % bootstrap con *L. arvalis* para un grupo de cepas. En las curvas de crecimiento se encontró que presentan un máximo entre 25 °C-28 °C y algunas cepas no crecen a 35 °C. Las cepas P15.4.B1 y P15.1.C2 mostraron mejor comportamiento biocontrolador contra *P. irregulare* con un porcentaje de inhibición de 89,58 % y 91,67 %, respectivamente. Esta especie se cita por primera vez para Argentina.

COMUNIDADES FÚNGICAS Y SU RELACIÓN CON LA REGENERACIÓN NATURAL EN  
BOSQUES DE *Nothofagus pumilio* AFECTADOS POR LA ERUPCIÓN DEL COMPLEJO  
VOLCÁNICO PUYEHUE CORDÓN CAULLE

Moguilevsky D<sup>1,2</sup>, Fernández NV<sup>1,2</sup>, Meier SF<sup>3</sup>, Cornejo PE<sup>3</sup>, Fontenla SB<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Aplicada y Biotecnología, Centro Regional Universitario Bariloche, UNComahue - INIBIOMA, Quintral 1250, Bariloche, Río Negro, Argentina, <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina, <sup>3</sup>Center of Amelioration and Sustainability of Volcanic Soils, BIOREN-UFRO, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.  
Email: dmoguile@gmail.com

La erupción de 2011 del complejo volcánico Puyehue-Cordón Caulle afectó extensas regiones de bosques Andino-patagónicos de *Nothofagus*, depositando una capa de tefra sobre el suelo que afectó las comunidades vegetales y otros organismos. Los *Nothofagus* forman simbiosis mutualistas con ectomicorrizas (EcM), que contribuyen al establecimiento y desarrollo vegetal. El objetivo de este trabajo fue analizar la micorrización, las comunidades fúngicas asociadas al sistema radical y el crecimiento de plántulas de *N. pumilio* (lenga) en bosques afectados por la erupción. Se seleccionaron 3 bosques de lenga: dos con una capa de tefra de ~50 cm, uno con el estrato arbóreo vivo (*afectado*) y otro con el estrato arbóreo *muerto*, así como un bosque sin depósito de tefra (sitio *control*). En cada sitio se recolectaron 5 plántulas con el sustrato circundante (tefra y suelo). Se realizaron medidas morfométricas de todas las plántulas y se cuantificó la colonización de EcM y la riqueza de ectomorfortipos. Para analizar las comunidades fúngicas de los sustratos se utilizó PCR anidada-DGGE de la región ITS utilizando los *primers* ITS1F-ITS4 para hongos totales, ITS1F-ITS4A para Ascomycetes e ITS1F-ITS4B para Basidiomycetes, y en la segunda amplificación el par ITS1F-ITS2CG. Se observó que los ambientes con tefra poseen regeneración natural de lenga. Las plántulas del sitio *muerto* exhibieron los mayores valores de diámetro de tallo y raíz y de longitud del tallo. Todas las plántulas presentaron EcM. Los porcentajes de colonización fueron similares entre los sitios *muerto* y *control* (>81%) y significativamente mayores al sitio *afectado* (56%). La mayor riqueza de ectomorfortipos corresponde al sitio *control*, mientras que los sitios con tefra presentaron valores similares entre sí. En los perfiles de DGGE se observó que comunidades de Basidiomycetes y hongos totales en plántulas de sitios con tefra se separan de las plántulas creciendo en el suelo, mientras que para Ascomycetes no se detectaron diferencias. Diversos factores ambientales (intensidad lumínica, disponibilidad de agua, presencia de micorrizas) influyen en el crecimiento de las plántulas, por lo que las plántulas del sitio *muerto* presentaron el mayor tamaño. Los sitios con tefra mostraron la presencia de inóculo micorrícico capaz de colonizar las raíces de las plántulas. La mayor riqueza de EcM en el sitio *control* con respecto a los sitios con tefra se debe a la disponibilidad diferencial de inóculo entre la tefra y el suelo del bosque nativo. De igual forma, se observa en los patrones de DGGE que las comunidades fúngicas de los sitios con tefra son similares entre sí y diferentes a las del suelo. Estos resultados indican que EcM y comunidades fúngicas del sustrato donde se desarrollan las plántulas forman parte de las estrategias que contribuyen a la dinámica de regeneración post erupción del bosque, y que deben ser considerados para una regeneración asistida de ecosistemas sometidos a este tipo de impacto geológico.

## INCREMENTO DE LA ABUNDANCIA DE BACTERIAS OXIDADORAS DE AMONÍACO DE SUELOS DEL MONTE PATAGÓNICO EN RESPUESTA A LA HUMEDAD DEL SUELO Y A LA CALIDAD DEL MANTILLO VEGETAL

Marcos MS<sup>1,2</sup>, Bertiller MB<sup>2,3</sup>, Saraví Cisneros H<sup>2</sup>, Olivera NL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología y Biotecnología, Instituto Patagónico para el Estudio de los Ecosistemas Continentales (IPEEC, CENPAT – CONICET), Puerto Madryn, <sup>2</sup>Laboratorio de Ecología de Pastizales, Instituto Patagónico para el Estudio de los Ecosistemas Continentales (IPEEC, CENPAT – CONICET), Puerto Madryn, <sup>3</sup>Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), Puerto Madryn. Email: magali@cenpat-conicet.gob.ar

Los recambios en la composición de especies vegetales, producidos a raíz del pastoreo, influyen sobre la calidad del mantillo vegetal y a través de ello sobre los nutrientes que recibe el suelo como aporte por parte de las plantas. Son escasos los estudios sobre el efecto de estos recambios de especies vegetales sobre la nitrificación, definida como la oxidación de amoníaco a nitratos vía nitritos. Además, dichos efectos podrían verse influenciados por la humedad del suelo, ya que ésta regula la descomposición del mantillo y la liberación de sus nutrientes.

El objetivo de este estudio fue evaluar si la humedad del suelo y la calidad del mantillo vegetal, en sitios con distinta historia de pastoreo, influyen sobre la concentración de formas inorgánicas de N (nitratos y amonio) y sobre la abundancia de bacterias y arqueas oxidadoras de amoníaco (AOB y AOA, respectivamente) en suelos áridos del Monte Patagónico.

Microcosmos conteniendo suelo superficial de parches vegetados del Monte Patagónico, y cubiertos por mantillo vegetal de sitios poco o muy pastoreados (PB o PA, respectivamente), o sin mantillo (control, C), fueron sometidos a dos condiciones de humedad (5 y 15%). Se prepararon 21 réplicas de cada tratamiento (combinación de tipo de mantillo y humedad), totalizando 126 microcosmos, que fueron incubados a temperatura de 25°C y cosechados sin reposición a diferentes tiempos para analizar su concentración de nitratos y amonio (por colorimetría en un autoanalizador), y en algunas fechas del período de incubación, la abundancia de genes *amoA* de AOB y AOA, por medio de qPCR. Estos genes codifican las enzimas que catalizan el paso limitante de la nitrificación.

La concentración de nitratos fue estable al 5% de humedad, incrementando ligeramente a lo largo de 70 días de incubación. En cambio, durante el mismo período los nitratos aumentaron en promedio 7 veces cuando la humedad fue del 15%, evidenciando un importante efecto de la humedad sobre la nitrificación. Por otra parte, la calidad del mantillo vegetal afectó la concentración de amonio del suelo, ya que esta fue mayor en los tratamientos PB con respecto a PA ( $p < 0,05$ ), y un 32 a 92% mayor en PB con respecto a C. La abundancia de genes *amoA* de AOB varió entre  $2,3 \pm 0,1 \times 10^5$  y  $1,7 \pm 0,9 \times 10^8$  copias del gen  $g^{-1}$  suelo, y fue superior en la condición de 15% respecto a la de 5% de humedad sólo en los tratamientos PB (día 14:  $p = 2 \times 10^{-4}$ ; día 70:  $p = 0,03$ ), mientras que no se observaron efectos en PA o C. En cambio, la abundancia de genes *amoA* de AOA varió entre  $7,3 \pm 3,0 \times 10^3$  y  $9,6 \pm 7,0 \times 10^4$  copias del gen  $g^{-1}$  suelo, y fue siempre significativamente inferior a la abundancia de genes de AOB ( $p < 0,05$ ). Más aún, la relación AOB:AOA varió entre 12 y 3.170. Estos resultados sugieren que en estos suelos las AOB parecerían estar jugando un rol en la nitrificación más importante que las AOA, y que la calidad del mantillo vegetal y la humedad estimularon a este grupo de organismos nitrificadores.

## FORMACIÓN DE BIOFILMS POR PARTE DE LEVADURAS DE SUELO DE BOSQUES NATIVOS DE LA PATAGONIA ARGENTINA

Mestre MC<sup>1</sup>, Dames JF<sup>2</sup>, Fontenla S<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología Aplicada y Biotecnología, INIBIOMA (CONICET - UNComahue), Argentina, <sup>2</sup> Mycorrhizal Research Laboratory, Rhodes University, Sudáfrica.  
Email: mariaceciliamestre@gmail.com

Los suelos de los bosques nativos de la Patagonia Argentina presentan comunidades de levaduras con una alta diversidad. La composición de especies de estas comunidades está influenciada por condiciones ambientales como la disponibilidad de nutrientes o el desarrollo del suelo. Las especies de levaduras dominantes en estos suelos corresponden al phylum Basidiomycota como *Cryptococcus* sp. y *Trichosporon* sp.. Algunas de estas especies producen polímeros extracelulares (mayormente polisacáridos) que forman cápsulas y participan en procesos de agregación entre células dando lugar a la formación de biofilms. Estos mismos polímeros extracelulares contribuyen a la agregación de partículas del suelo influenciando la estructura del suelo.

En este trabajo se estudió la capacidad de formar biofilms por parte de diferentes especies de levaduras utilizando diferentes condiciones de cultivo. Se utilizaron aislamientos de levaduras correspondientes a las especies *Cryptococcus podzolicus*, *C. phenolicus*, *C. aerius*, *C. terricola*, *Cryptococcus* sp., *Holtermanniella wattica* y *Trichosporon porossum*. Se utilizaron medios de cultivo con diferentes contenidos de nitrógeno y un medio rico. Se utilizaron medios sólidos para observar las variaciones de morfología de las colonias y microscopía de las células por tinción con tinta china. Se realizaron cultivos con medio líquido en microplacas de policarbonato a 10°C y 20°C, sin agitación, durante 7 días. La formación de biofilms se evaluó por tinción con cristal violeta y detección colorimétrica a 575 nm.

Se observó un cambio morfológico de las colonias consistente con la producción de capsula en los medios de cultivo deficientes en nitrógeno. Se observó una mayor producción de biofilms en los cultivos realizados en medios deficientes en nitrógeno. Las especies de levaduras mostraron distintos valores de producción de biofilms en las condiciones evaluadas. *Trichosporon porossum* fue la especie que mostró la mayor capacidad para formar biofilms en todas las condiciones de cultivo. Ésta es la especie dominante en la comunidad de levaduras de sitios con suelos poco desarrollados con menor disponibilidad de nutrientes. *Holtermanniella wattica* mostró un aumento de la producción de biofilms a bajas temperaturas en medios sin nitrógeno o con bajas concentraciones. Ésta fue la única especie recuperada en sucesivos intentos en medio sin nitrógeno a 10°C; aunque representa un porcentaje minoritario de los aislamientos obtenidos en medios ricos a 20°C.

La formación de biofilms por parte de levaduras parece estar asociada a condiciones ambientales de estrés como son la deficiencia de nutrientes y las bajas temperaturas. En ambientes templado-fríos como los imperantes en los bosques nativos de Patagonia, la formación de biofilms puede ser una estrategia importante en la conservación de nutrientes (secuestra y concentra nutrientes), como resistencia a condiciones ambientales adversas y en los procesos de agregación del suelo.

## HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EXTREMÓFILOS DE ARGENTINA: ESTUDIO DE LA TOLERANCIA FRENTE A DIVERSOS TIPOS DE ESTRÉS AMBIENTAL

Scorza MV, Silvani VA, Statello M, Benavidez M, Pégola M

Lab. Microbiología del Suelo, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada- CONICET. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.  
Email: marinastatello@hotmail.com

El estudio de ambientes extremos es importante ya que permite esclarecer los mecanismos que poseen las especies para crecer al límite de su tolerancia frente a distintas condiciones ambientales adversas. En nuestro país, la Reserva Provincial *Laguna Brava* (La Rioja), de importancia internacional por su diversidad biológica y su relevante función hidro-ecológica, representa un ambiente extremo. A más 4300 msnm, las lagunas altoandinas de Laguna Brava están dominadas por condiciones extremas de hipersalinidad, alcalinidad y metales pesados. La escasa vegetación que se desarrolla en el sitio establece en sus raíces la simbiosis mutualista Micorriza Arbuscular con ciertos hongos del suelo del phylum *Glomeromycota* (HMA). Estos microorganismos estarían adaptados a los factores extremos que los rodean. El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto y tolerancia de tres especies de HMA aisladas de Laguna Brava (*Funneliformis mosseae*, *Entrophospora infrequens* y *Funneliformis* sp.) frente a distintos rangos de pH y salinidad durante el estadio pre-simbiótico. Para llevar a cabo este estudio se extrajeron esporas provenientes de cultivos trampa con muestras de suelo del sitio. Las esporas se desinfectaron e inocularon en medio agarizado ajustado a distintos rangos de pH y salinidad. Luego de un mes de incubación se midió el porcentaje de germinación, parámetros de crecimiento hifal y viabilidad. La germinación de las esporas y su desarrollo hifal en las tres especies varió según el pH analizado. A pH ácido (pH4) ninguna de las cepas germinó a pesar del alto porcentaje de esporas viables. A pH alcalino hubo un mayor porcentaje de germinación y desarrollo pre-simbiótico en esporas de *E. infrequens* y *Funneliformis* sp., observando un alto incremento en la longitud y ramificación hifal a pH 8 y pH 10, respectivamente. La salinidad afectó negativamente la germinación y el desarrollo pre-simbiótico de las esporas de *E. infrequens* y *Funneliformis* sp., pero no así su viabilidad. A medida que se incrementó la salinidad disminuyó la longitud y las ramificaciones hifales de las esporas germinadas en ambas especies. La cepa de *F. mosseae* presentó una germinación casi nula bajo las diferentes condiciones de pH y salinidad a pesar de su alta viabilidad, indicio de un probable estado de dormición en sus esporas. A pesar de que las especies de HMA identificadas son reconocidas como especies cosmopolitas, se evidenció que las cepas aisladas de Laguna Brava presentan una mayor germinación de las esporas y desarrollo pre-simbiótico bajo condiciones similares a las de los suelos del sitio en estudio. Estas cepas de HMA podrían considerarse alcalinofílicas y halotolerantes durante las etapas previas al establecimiento de la simbiosis.

## MICROORGANISMOS COLONIZADORES DE PELÍCULAS POLIMÉRICAS HÍBRIDAS DE PULIURETANIO/POLIACRÍLICOS

Faccia PA<sup>1</sup>, Pardini FM<sup>2</sup>, Amalvy JI<sup>2</sup>, Del Panno MT<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP, CCT- La Plata, CONICET), <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas teóricas y Aplicadas, INIFTA (UNLP, CCT- La Plata, CONICET). Email: mariatdelpanno@gmail.com

Los materiales poliméricos son sustratos potenciales para los microorganismos heterótrofos. Durante su uso están constantemente expuestos a la contaminación microbiana que deriva en su envejecimiento, deterioro y desintegración. En los últimos años, el estudio del deterioro biológico de los polímeros ha recibido gran atención debido a que estos materiales se han vuelto una parte importante en la sociedad. Es sabido que el biodeterioro depende de la estructura y composición química del polímero, de la presencia de una población microbiana degradadora y de las condiciones del medioambiente. Sin embargo poco se conoce acerca de las comunidades de microorganismos degradadores de polímeros en general, y en particular de los polímeros sintéticos híbridos. En este contexto, el objetivo de este trabajo es analizar la estructura de la comunidad microbiana desarrollada a expensas de películas poliméricas híbridas sintetizadas en base a poliuretanos con diferentes proporciones de acrílico, y determinar cómo afecta la composición química del polímero la estructura de dichas comunidades.

Como sustrato se emplearon películas híbridas compuestas por poliuretano/poliacrílico (PU/A), con distintas proporciones (100:0, 90:10 y 70:30 respectivamente). La películas se colocaron por triplicado en una suspensión al 10% p/p de tierra de jardín, y se incubaron con agitación a temperatura ambiente durante 30 días. Posteriormente fueron traspasadas a medio mineral líquido e incubadas por 30 días en las mismas condiciones. Éste último paso se repitió tres veces. El deterioro de las películas se evaluó por gravimetría y espectroscopia infrarroja con el método de Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR). El ensayo de gravimetría evidenció una pérdida del peso entre 6,0 % y 9,3 % para el PU/A 100:0 y 70:30 respectivamente. Los espectros FTIR-ATR de las películas PU/A 90:10 y 70:30 mostraron cambios significativos en las regiones correspondientes al estiramiento de los grupos O-H, N-H, C=O libre, al enlace amida II y a la "huella digital. La colonización del material se visualizó por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). Las imágenes de SEM evidenciaron un cambio en la estructura y morfología del biofilm. Dichas observaciones fueron acompañadas por cambios significativos en los recuentos bacterianos en agar R3 entre el PU/A 90:10 y el 70:30, siendo del orden de 10<sup>5</sup> UFC/película. La diversidad genética microbiana de las comunidades presentes se estudió por extracción del ADN seguido de la pirosecuenciación masiva del 16S rDNA. El análisis evidenció la presencia de miembros de los filos Actinobacterias, Firmicutes, y Proteobacterias (clases  $\gamma$  y  $\beta$  proteobacteria). En función del aumento de la proporción de acrílico presente en el híbrido se detectó mayor abundancia de los géneros *Pseudomonas*, *Sphingopyxis*, *Sphingomonas* y *Dokdonella*. Los resultados muestran un cambio en la estructura de la comunidad microbiana en función de la composición del polímero.

## EVALUACIÓN DEL USO DE EXTRACTOS VEGETALES ACUOSOS COMO ADITIVOS ANTIFÚNGICOS PARA PINTURAS

Deyá C<sup>1,2</sup>, Rastelli SE<sup>1,3</sup>, Bellotti N<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>CIDEPINT (Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas)- CICIPBA- CONICET. 52 e/121 y 122, (B1900AYB) La Plata; <sup>2</sup>Facultad de Ingeniería (UNLP); <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). Email: pinturashigienicas@cidepint.gov.ar

El crecimiento de biopelículas en las superficies de los interiores edilicios resulta una amenaza desde el punto de vista ambiental para los individuos debido a la formación de bioaerosoles. Uno de los caminos para enfrentar esta problemática es el desarrollo de nuevos recubrimientos antimicrobianos amigables con el ambiente. En relación a lo expuesto, el presente trabajo tuvo como objetivo la evaluación preliminar de tres extractos vegetales acuosos de: *Aloysia triphylla* (cedrón), *Laurelia sempervirens* (laurel) y *Ruta chalepensis* (ruda) para ser utilizados como agentes antifúngicos en pinturas de interior. Las especies referidas fueron seleccionadas teniendo en cuenta la abundancia en la región y datos bibliográficos que muestran algún grado de bioactividad. La evaluación de la actividad antifúngica se realizó con los hongos *Chaetomium globosum* y *Alternaria alternata*, aislados a partir de películas de pintura biodeterioradas en un trabajo previo.

Se realizó la extracción a partir de las hojas de los vegetales citados sumergiéndolas en agua destilada a 80°C durante 3 minutos. Luego se procedió al filtrado de los mismos y el sobrenadante se conservó en frascos color caramelo en heladera. La relación entre la cantidad de material vegetal y agua destilada fue de 1g/100mL. Se evaluó la actividad antifúngica mediante un ensayo de difusión en agar, adaptación de la técnica de Kirby-Bauer. Las placas fueron inoculadas con los aislados fúngicos de interés y 20 µL de cada extracto fueron introducidos en cilindros de vidrio de 6 mm de diámetro interno (tres por placa). Se seleccionó el extracto más activo y fue adicionado a una pintura acrílica de interior reemplazando en su elaboración el agua de la formulación por el propio extracto acuoso en un 66,6% y 100% v/v, pinturas E1 y E2, respectivamente. También se elaboró como control una pintura sin extracto. Por último, se evaluó el crecimiento superficial de las cepas fúngicas, antes citadas, en las pinturas en un ensayo en placa, siguiendo una metodología similar a la de la norma ASTM D5590-00.

Ambas cepas fúngicas presentaron mayor susceptibilidad al extracto de laurel por lo tanto fue seleccionado para formular y elaborar las pinturas. Luego de un mes a 28°C las muestras de pintura inoculadas y dispuestas en placas fueron calificadas según la norma citada, teniendo en cuenta el desarrollo superficial: nulo, escaso (<10%), leve (10–30%), moderado (30–60%), abundante (60–100%). Las muestras con la pintura E2 (mayor concentración de extracto) presentaron un crecimiento leve frente a *C. globosum*, mientras que las muestras control mostraron un crecimiento abundante. En relación a la otra especie inoculada la cobertura del micelio resultó moderado, aunque mayor a lo esperable, las muestras control presentaron un desarrollo abundante.

Por lo tanto, la pintura E2 muestra en forma preliminar resultados promisorios en cuanto al uso de extractos vegetales acuosos aplicados a pinturas.

## EVALUACION DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE TIMOL, GUAYACOL, EUGENOL Y ANISOL SOBRE DIFERENTES CEPAS BACTERIANAS

Gómez de Saravia SG<sup>1,2</sup>, Rastelli SE<sup>1,2</sup>, Blustein G<sup>1,3</sup>, Viera MR<sup>1,4</sup>

1Centro de Investigaciones y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT), CICPBA-CONICET-CCT, La Plata, 52 e/ 121 y 122 (1900), La Plata, Buenos Aires, Argentina; 2Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP; 3Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, 4Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. Email: serastelli@hotmail.com

La adherencia de microorganismos sobre la superficie de diferentes materiales y el posterior desarrollo de biofilms puede ocasionar problemas tan diversos como biocorrosión, pérdida de rendimiento de equipos, biodeterioro de productos y materiales de importancia patrimonial. Dado que la adherencia microbiana es un requisito para que desarrollen los biofilms, prevenir esta adherencia tiene un importante impacto al evitar o reducir la colonización biológica de un material y su posterior deterioro. A fin de reducir la colonización microbiana de materiales se han utilizado sustancias químicas de actividad biocida, aunque, en general, también presentan efectos tóxicos para el medioambiente. Los productos naturales de origen vegetal (PNOV) presentan una amplia variedad de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, terpenos, cumarinas, taninos, etc., que tienen propiedades antimicrobianas sobre bacterias, hongos y algas. Los PNOV constituyen una alternativa eficaz a los biocidas tradicionalmente empleados reduciendo los efectos adversos sobre el ambiente y la salud humana. En este trabajo se estudió la actividad antimicrobiana de cuatro compuestos de origen vegetal con el objeto de incorporarlos en formulaciones de pinturas antimicrobianas. La sensibilidad se ensayó mediante: i) método de difusión en agar (basado en Kirby-Bauer) y ii) concentración mínima inhibitoria (CMI). Los compuestos utilizados fueron: timol, guayacol, eugenol y anisol. Las cepas bacterianas escogidas: *Kocuria rhizophila*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli* y *Pseudomonas* sp. El ensayo de difusión se realizó en placas de Petri con agar MH, las placas se inocularon con hisopo estéril a partir de inóculos con una carga bacteriana inicial  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>, en cada placa se colocaron discos de 6 mm de diámetro embebidos con 8μL de cada compuesto en una concentración 4M. Para la CMI se utilizaron placas de 48 posillos, en cada posillo se colocaron 1000μL de caldo MH con una carga microbiana de  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> y se evaluaron concentraciones entre 0,001 y 10 mM de cada compuesto. En ambos ensayos las placas se incubaron durante 24hs a 30°C y se realizaron por triplicado. Se midieron los diámetros de los halos de inhibición, considerando: 6 mm actividad negativa, 7-10 mm moderada y 11 mm positiva. Para la CMI se consideró el crecimiento como: -, +, ++. El timol presentó actividad positiva en todas las concentraciones y sobre todas las cepas bacterianas; el guayacol y el eugenol presentaron una actividad moderada a positiva, no registrándose inhibición del crecimiento bacteriano para el anisol. A través de la CMI se observó inhibición de crecimiento de *K. rhizophila* y *Pseudomonas* sp. en una concentración de 1 mM de timol e inhibición de *K. rizophyla* y *E. coli* en 10 mM de eugenol. Estos resultados nos permiten considerar la incorporación de guayacol, eugenol y timol en formulaciones de pinturas antimicrobianas



FORMACIÓN DE BIOFILM DE MICROORGANISMOS MARINOS DEGRADADORES DE  
HIDROCARBUROS: INFLUENCIA DEL SUSTRATO DE CRECIMIENTOSepúlveda MA<sup>1</sup>, Revuelta F<sup>2</sup>, Olivera NL<sup>1</sup>, Nievas el Makte ML<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Centro Nacional Patagónico (CONICET-CENPAT), Bv. Brown 2915, Puerto Madryn,<sup>2</sup>Universidad Tecnológica Nacional-Facultad Regional Chubut, Av. del Trabajo 1536, Pto. Madryn  
Email: nievas@cenpat.edu.ar

Los microorganismos (MO) degradadores de hidrocarburos son ubicuos y responsables de los procesos de biodegradación de estos compuestos en una gran diversidad de ambientes. La utilización de MO de ocurrencia natural en actividades de recuperación de sitios contaminados con hidrocarburos (biorremediación) es una tecnología eficiente de tratamiento de residuos y efluentes, y de remediación ambiental. En particular, los sistemas con MO inmovilizados en biofilms poseen altas eficiencias y mayor supervivencia en condiciones adversas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad de formación de biofilm de MO degradadores de hidrocarburos de origen marino en función del sustrato de crecimiento, para evaluar el potencial de los mismos para ser utilizados en biorremediación de hidrocarburos en sistemas inmovilizados. Para ello, se estudió el crecimiento de una cepa de *Pseudomonas stutzeri* (RS02) y dos consorcios microbianos (EC2-GO y FORS) en placas de 96 celdas con tubos cerrados de vidrio de 2 ml con 400 ul de medio mínimo marino y una única fuente de carbono. Se ensayaron como sustratos de crecimiento: glucosa, *n*-hexadecano, petróleo crudo, naftaleno, fenantreno, fluoreno y pireno. Se incubaron durante 20 días con agitación, y a tiempo final se determinó la turbidez del medio líquido (620 nm) y la formación de biofilm mediante la técnica de cristal violeta (595 nm). Se clasificó la formación de biofilm en función del valor de corte del control como débil, moderada o fuerte. Los MO ensayados resultaron fuertes formadores de biofilm cuando crecieron en glucosa. El consorcio microbiano EC2-GO enriquecido en gas-oil altamente intemperizado, fue capaz de formar biofilm débil o moderado sobre hidrocarburos aromáticos; y FORS presentó formación débil de biofilm sobre fenantreno, pireno y fluoreno. No se encontraron resultados positivos sobre *n*-hexadecano y petróleo para ambos consorcios. *P. stutzeri* (RS02) formó biofilm sobre todos los hidrocarburos estudiados, siendo fuerte sobre *n*-hexadecano, moderado sobre petróleo, naftaleno y fluoreno, y débil sobre fenantreno y pireno. En este trabajo no se encontró una correlación entre los valores positivos de aumento de la turbidez del medio líquido de los cultivos respecto a los resultados positivos de la formación de biofilm, en contraste con lo que se describe generalmente para MO que se estudian en medios ricos. Se demostró que la fuente de carbono afecta fuertemente la formación de biofilm, y que la utilización de glucosa como fuente de carbono para realizar screening para la prospección de MO formadores de biofilm, previamente aislados sobre hidrocarburos, es recomendable aunque no concluyente. Los resultados obtenidos mostraron que los MO estudiados fueron capaces de metabolizar los hidrocarburos testeados e incluso formar biofilm sobre ellos, revelando buenas características de los mismos para su utilización en la degradación de compuestos aromáticos de mayor resistencia en sistemas inmovilizados.

## CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA ESPACIO-TEMPORAL DE PLAYAS CON USO RECREACIONAL DEL EMBALSE SAN ROQUE, CORDOBA, ARGENTINA

Aguirre B<sup>1,2</sup>, Martínez Wassaf M<sup>2</sup>, Grumelli Y<sup>1,2</sup>, Diaz Panero M<sup>1,2</sup>, Castillo J<sup>3</sup>, Barril P<sup>4</sup>, Prez V<sup>4</sup>, Masschessi G<sup>4</sup>, Pisano MB<sup>2,4</sup>, Ré V<sup>2,4</sup>, Pavan J, Nates S<sup>4</sup>, Welter A<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Central -División Aguas, Efluentes y Alimentos-, Universidad Católica de Córdoba,<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba, <sup>3</sup>Facultad de Ingeniería, Universidad Católica de Córdoba, <sup>4</sup>Instituto de Virología-Facultad de Ciencias Médicas- Universidad Nacional de Córdoba.  
Email: pamelaaguirre25@gmail.com

En Argentina en las últimas décadas se incrementó la fragilidad de los sistemas hídricos, reflejado en las dificultades para la evacuación de líquidos residuales y la contaminación de espacios acuáticos destinados a recreación. Un ambiente hídrico relevante en Córdoba es el embalse San Roque, ubicado en la localidad de Carlos Paz, 40 Km aguas arriba de Córdoba capital y representa un área de gran afluencia turística, ofreciendo actividades de recreación, pesca y deportes náuticos. El objetivo es caracterizar microbiológicamente las playas de mayor afluencia poblacional, evaluando contaminación bacteriana y viral de forma estacional y espacial como potenciales causantes de transmisión de enfermedades hídricas. Entre sep2011 y sep2014 se tomaron muestras de tres playas: Club de Pescadores (CP), Bahía El Gitano (BEG) y Playa Perelli (PP). Se realizaron análisis físico químicos y microbiológicos: fósforo total (PT) y reactivo soluble (PRS), sólidos totales suspendidos (TSS), nitrógeno de nitratos ( $\text{NNO}_3^-$ ) y de amonio ( $\text{NNH}_4^+$ ), bacterias aerobias mesófilas (BAM), coliformes totales (CT) y fecales (CF) y virus entéricos (rotavirus, picobirnavirus, virus de hepatitis A y E). Las medias de los recuentos de BAM (UFC/mL) fueron superiores en BEG ( $6,7 \times 10^2$ ) que en CP ( $4,8 \times 10^2$ ) y PP ( $3,7 \times 10^2$ ). El mismo comportamiento se observó para los niveles de CT y CF (NMP/100 mL) para BEG ( $2,1 \times 10^3$  y  $3,2 \times 10^2$ ), CP ( $1,7 \times 10^3$  y  $6,1 \times 10^1$ ) y PP ( $9,2 \times 10^2$  y  $1,4 \times 10^2$ ). La BEG es la más próxima al ejido urbano, de fácil acceso para la población y animales domésticos y recibe la descarga continua de la red pluvial de la zona. Los valores de CF, indicadores de contaminación en aguas recreaciones (OPS < 1000), cuando no es época de lluvias superan los máximos, más aún en BEG. En agosto y septiembre 2014 existió correlación de TSS vs BAM y PT vs CT en los puntos analizados ya que los vientos provocan la resuspensión de sólidos del estrato profundo y generan un aumento de la turbidez y disponibilidad de PT estimulando el desarrollo de los microorganismos. Se registró rotavirus en por lo menos dos de las tres playas (BEG y/o PP y/o CP), picobirnavirus en por lo menos una de las tres (BEG o PP o CP) y virus de hepatitis E sólo agosto de 2013 en CP. Se comparó CT con PT durante el periodo analizado observándose la correlación de ambos en las tres playas, a excepción de aquellos momentos donde ocurre un evento que induce un incremento del grupo coliforme como por ejemplo el aumento de escorrentías. Las playas del Embalse evidenciaron niveles elevados de CF y presencia de virus productores de gastroenteritis durante todo el año, por lo que su utilización como agua de bañado sería potencial fuente para la transmisión de enfermedades, más aún en las playas cercanas al tejido urbano, ya que poseen los niveles más altos de CF. Este estudio demuestra la necesidad de implementar acciones preventivas y de remediación de los líquidos descargados en el Embalse para evitar un daño en la población expuesta.

ACTIVIDAD MICROBIANA Y PRODUCTIVIDAD DEL *Jatropha curcas* L. CRECIDO EN SUELO DEGRADADOSantos AA<sup>1</sup>, Agustini JA<sup>2</sup>, Maltoni KL<sup>3</sup>, Cassiolato AMR<sup>4</sup>

<sup>1</sup>UNESP/Universidad Estadual Paulista, Facultad de Ingeniería, Campus de Ilha Solteira, SP, Brasil: adriana\_agronomia@hotmail.com, <sup>2</sup>UNESP/Ilha Solteira: agustini@agr.feis.unesp.br, <sup>3,4</sup>UNESP/Ilha Solteira: maltoni@agr.feis.unesp.br; anamaria@bio.feis.unesp.br.

Las actividades antrópicas que implican la eliminación de la vegetación y de la capa superficial del suelo pueden exponer al subsuelo, pobre en nutrientes y materia orgánica (MO), con atributos físicos, químicos y biológicos comprometidos, como se observa en áreas cercanas a la Usina Hidroeléctrica de Ilha Solteira, SP, Brasil. En estas condiciones, la restauración de la vegetación requiere atención especial, como la adición de residuos al subsuelo para promover la actividad microbiana, proporcionar nutrientes y mejorar las condiciones del subsuelo, o bien la elección de plantas más resistentes o adaptadas a condiciones adversas, como la jatropha (*Jatropha curcas* L.). La mejoría en la calidad del suelo puede ser evaluada por la actividad microbiana, o sea, por el carbono CO<sub>2</sub> (C-CO<sub>2</sub>) liberado, que resulta de la oxidación de la MO por los microorganismos aerobios. Así, este estudio tuvo como objetivo determinar la actividad microbiana y la productividad de la jatropha cultivada en suelos degradados, con agregado de inóculo, residuos e hidrogel. El experimento fue conducido durante 12 meses, en la hacienda de la UNESP, Campus de Ilha Solteira, SP. Para la caracterización química inicial del suelo se recogieron muestras a una profundidad de 0 a 0,1 m, mostrando los siguientes resultados: P (mg dm<sup>-3</sup>) = 4; MO (g dm<sup>-3</sup>) = 7; pH (CaCl<sub>2</sub>) = 4,2; H + Al; Al y SB (mmolc dm<sup>-3</sup>) = 13; 2 y 2,4. El experimento diseñado en bloques aleatorios con diseño factorial 2 x 2 x 4, es decir, 2 tratamientos de inoculación (con y sin inóculo de suelo), 2 tratamientos de hidrogel (con y sin) y 4 tratamientos de pit (plantas acuáticas, ceniza, plantas acuáticas+ceniza y control), con cuatro repeticiones y cinco plantas evaluadas por repetición. Las plantas acuáticas fueron secadas y aplicadas a razón de 15 t ha<sup>-1</sup> de materia seca por pit y la ceniza del bagazo de la caña de azúcar, equivalente a 30 t ha<sup>-1</sup>. Todos los tratamientos recibieron corrección de suelo y fertilidad en mínima cantidad, o sea, caliza dolomítica (0,0594 t ha<sup>-1</sup>), sulfato de amonio (0,0396 t ha<sup>-1</sup>), superfosfato (0,0231 t ha<sup>-1</sup>) y cloruro de potasio (0,0023 t ha<sup>-1</sup>). Para los tratamientos de inoculación, durante el plantío de plántulas, se añadieron 200 g de suelo natural (inóculo), proporcionando unos 600 esporas de AMF per pit. El hidrogel se aplicó luego después del plantío de las plántulas, distribuyendo 3 g de hidrogel diluido en 700 mL de agua, en la superficie. La actividad microbiana fue evaluada por la cuantificación de C-CO<sub>2</sub> liberado siguiendo la metodología propuesta por Anderson; Domsch (1989). Los frutos de jatropha, recogidos entre 12 y 14 meses del plantío, fueron secados al sol, pelado y las semillas pesadas, para posterior cálculo de productividad (kg ha<sup>-1</sup>). Se observaron las tasas más altas de C-CO<sub>2</sub> liberado y productividad de la jatropha en el tratamiento con inoculación combinado con las plantas acuáticas o plantas acuáticas+ceniza. El aumento en la actividad microbiana se puede justificar, también, por la adición de residuo orgánico, en el caso de las plantas acuáticas que, además de los nutrientes, contribuye para la retención de humedad en el suelo. Por el grado de degradación del suelo, la productividad de jatropha, al final del primer año, fue considerada muy baja (1,4 a 5,7 kg ha<sup>-1</sup>) comparada con la producción comercial, siendo los menores valores detectados en tratamiento sin inocular y sin hidrogel.

Anderson, T.H.; Domsch, K.H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic in arable soils. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 21, n. 4, p. 471-479, 1989.

Trabajo realizado con fondos del CNPq y CAPES.

AISLAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE HONGOS DE SUELO ASOCIADO A DESAGÜES CLOACALES EN LA PLAYA PALO BLANCO, CIUDAD DE BERISSO, PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Ferreri N<sup>1</sup>, Elíades L<sup>1</sup>, Cabello M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Botánica Spegazzi, FCNyM (UNLP), <sup>2</sup>Comisión de investigaciones científicas (CIC).  
Email: nati\_f@live.com.ar

La playa Palo Blanco pertenece a la cuenca del Río de La Plata, ubicado en la ciudad de Berisso a 6 km de la ciudad de La Plata. Estas playas reciben los desagües cloacales de la ciudad de La Plata, barrios El Dique y Villa Arguello pertenecientes a Berisso y Ensenada. Todo el sistema cloacal converge en un conducto máximo sobre la calle 66 y desagua finalmente en la planta depuradora de Berisso la cual vuelca sus líquidos en el Río de La Plata (Palo Blanco). El servicio cloacal de Berisso que cubre el casco urbano desagua aguas debajo de la planta depuradora, por lo que estos líquidos no poseen tratamiento. Los hongos junto a otros microorganismos del suelo son responsables de la descomposición de materia orgánica y de la dinámica de transformación y desarrollo de procesos químicos. El objetivo de este trabajo fue analizar la micobiota del suelo de la Playa Palo Blanco mediante el aislamiento e identificación de las especies fúngicas presentes y la determinación de la diversidad fúngica mediante el cálculo de frecuencias de aparición de las distintas especies de hongos e índices de biodiversidad.

Se recolectaron 6 muestras compuestas en 3 sectores derecha, izquierda y descarga directa alrededor del caño de desagüe, tomadas a 1,5m (sitio1) y 4m (sitio2) de distancia del caño y a 1 metro de la línea de costa. Para el aislamiento de hongos se utilizó el método de lavado de suelo de Parkinson & Williams. Se colocaron 100 partículas en placas de Petri a razón de 4 partículas por caja, para cada muestra, conteniendo agar extracto de malta más antibiótico. Las placas se incubaron a 25°C. Se aislaron y determinaron 35 cepas fúngicas. Las diferentes especies taxonómicamente determinadas y sus frecuencias de aparición fueron utilizadas para calcular el índice de biodiversidad (H') Shannon- Weiner; riqueza específica (S) y equitatividad (J'). El mayor índice de diversidad registrado en los tres sectores fue de H= 3,383 en el sitio 2 a la izquierda del caño y el menor índice de diversidad fue H= 2,36 descarga directa sitio 2. La mayor riqueza encontrada (S=13) fue en el sitio 2 de los sectores derecha e izquierda del caño. La equitatividad más alta fue de J=0,968 en el sitio 1 a la derecha del caño de desagüe y la más baja fue registrada para los sitios 1 y 2 de la descarga directa.

El conocimiento de la diversidad de ambientes contaminados por materia orgánica proveniente de las actividades humanas, volcados a cuerpos de agua y playas de uso público es de utilidad para futuros estudios acerca de la potencial patogenicidad de estos hongos.

## ESTABLECIMIENTOS AVÍCOLAS ¿RESERVORIO DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS?

Dominguez JE<sup>1,2</sup>, Redondo LM<sup>1,2</sup>, Redondo EA<sup>1,2</sup>, Di Conza J<sup>3</sup>, Mercado EC<sup>1</sup>, Fernández Miyakawa ME<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Inst. Patobiología, CICVyA- INTA. Los Reseros y Nicolás Repetto, Hurlingham, Bs. As. (1686).

<sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. <sup>3</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Bs. As. Email: dominguez.elizabeth@inta.gob.ar

En los últimos años la resistencia bacteriana a los antimicrobianos ha surgido como un problema de gran impacto en salud pública. Esta disminución en la susceptibilidad observada en patógenos de los seres humanos se encuentra íntimamente relacionada con la presencia de organismos resistentes en animales y en el medio ambiente. En los sistemas de producción avícola modernos, diferentes antimicrobianos se utilizan para el tratamiento y prevención de enfermedades, y como agentes promotores del crecimiento (APC). Los APC aumentan la producción, disminuyendo la morbilidad/mortalidad debido a enfermedades infecciosas y estimulan la ganancia de peso en los animales por mecanismos que, hasta el momento, no se comprenden. Debido al creciente impacto de la resistencia a los antimicrobianos, el uso no terapéutico de los mismos debe ser reevaluado, considerando que las bacterias presentes en los sistemas avícolas pueden desarrollar y transmitir diferentes mecanismos de resistencia a bacterias patógenas para los seres humanos.

Se analizaron cepas de *C. perfringens* y *E. coli* aisladas a partir de muestras de cama de pollos parrilleros. La identidad de las cepas obtenidas se confirmó mediante métodos bioquímicos y moleculares. De cada una de estas cepas se determinó el perfil de susceptibilidad a antimicrobianos terapéuticos y a APC. La susceptibilidad a antimicrobianos terapéuticos fue evaluada empleando el método de difusión con discos, y para los APC fueron evaluados mediante microdilución en caldo. Como controles se incluyeron cepas de referencia de ambas especies. Mediante un ensayo de conjugación se determinó la transmisión de la resistencia, utilizando una cepa de *E. coli* obtenido de la granja y empleando como receptora a *E. coli* CAG.

En todas las granjas estudiadas se detectó un alto nivel de multi-resistencia (mayor al 75%) a 4-6 familias de los diferentes antimicrobianos probados. Para los aislamientos de *E. coli* se observó un porcentaje de resistencia de 56% y 78% para colistina y neomicina. En el caso de *C. perfringens* el porcentaje de resistencia fue de 100% para flavomicina y lincomicina, 81% para josamicina, 69 y 63% para virginamicina y bacitracina respectivamente. En ambas especies bacterianas se observaron asociaciones entre la sensibilidad a los APC y a los antimicrobianos terapéuticos, sugiriendo que el uso de APC puede favorecer la selección resistencia cruzada.

Se logró eficientemente la transferencia plasmídica desde *E.coli* a la cepa receptora, evidenciándose crecimiento en el medio de selección empleado. Este resultado fue corroborado mediante comparación por medio de CIM entre la cepa dadora, la receptora y la transconjugante.

*Clostridium perfringens* EN INVERTEBRADOS MARINOS COMO INDICADOR DE CONTAMINACION FECAL

La Sala LF<sup>1,2,4</sup>, Redondo LM<sup>3,4</sup>, Díaz Carrasco JM<sup>3</sup>, Pereyra AM<sup>3</sup>, Farber M<sup>4,5</sup>, Fernández-Miyakawa ME<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>GEKKO, Grupo de Estudios en Conservación y Manejo, Depto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, <sup>2</sup>Cátedra de Epidemiología, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, <sup>3</sup>Instituto de Patobiología, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INTA, Castelar, Buenos Aires, Argentina, <sup>4</sup>CONICET, CABA, Argentina, <sup>5</sup>Instituto de Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INTA, Castelar, Buenos Aires, Argentina. Email: redondo.leandro@inta.gob.ar

El intercambio de microorganismos patógenos entre ambientes naturales y urbanizados es un fenómeno cada día más frecuente. Por este motivo, el estudio de la calidad microbiológica de los ambientes acuáticos que pueden ser utilizados con diversos fines por la población humana es de gran importancia. Con tal fin, se han utilizado indicadores biológicos de contaminación fecal como *Escherichia coli*, enterococos intestinales y bacteriófagos fecales. Sin embargo, estos microorganismos no constituyen indicadores confiables de contaminación debido a su corta sobrevivencia en ambientes acuáticos. *Clostridium perfringens* (CP) es un bacilo Gram positivo muy distribuido en la naturaleza y constituye un indicador más confiable debido a su capacidad de formar esporas altamente resistentes. El efecto de la dilución de la carga ambiental de patógenos constituye un problema adicional resultando en concentraciones bajas en el agua, dificultando su detección y medición directa. La bioacumulación de bacterias en invertebrados filtradores ha demostrado ser una herramienta útil para solucionar este inconveniente.

El objetivo de este trabajo fue investigar y validar el rol de CP como indicador de contaminación cloacal utilizando los cangrejos *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus* y del molusco *Heleobia australis* como bioacumuladores. En 2011 se realizó un estudio transversal de prevalencia de CP en las especies mencionadas en el Estuario de Bahía Blanca (EBB), Argentina. Se utilizaron cuatro estaciones de muestreo para los cangrejos y tres para los caracoles, ubicados a distancias variables de dos sitios de descarga cloacal derivados de plantas de tratamiento de aguas servidas. Para el aislamiento de CP, se extrajo el tracto gastrointestinal de cada cangrejo y se procesó el caracol entero luego de su lavado. Las colonias compatibles fueron aisladas mediante enriquecimiento y siembra en placas en anaerobiosis. La identidad de las colonias compatibles se determinó mediante pruebas bioquímicas y moleculares. Los resultados de prevalencia fueron analizados utilizando un modelo de regresión logística para analizar la asociación entre presencia de CP y distancia a puntos de vertido cloacal.

CP fue aislado en el 49,10% (54/110) de los cangrejos y 16,6% (10/60) de los caracoles. Todos los aislamientos de cangrejos fueron positivos para el gen de la toxina alfa, y un aislamiento también resultó positivo para el gen de la enterotoxina. El modelo de regresión mostró que, en comparación con el sitio de referencia (D), las chances de ser positivo a CP fueron 51 (IC 95%: 9,2-464,3;  $P < 0.0001$ ) más altas en cangrejos del Sitio A (más expuesto a descargas cloacales), 7,9 (IC 95%: 2,0-41,0;  $P < 0.01$ ) veces más altas en cangrejos del Sitio C, y 3,4 (IC 95%: 0,7-19,1;  $P > 0.05$ ) veces mayores en cangrejos del Sitio E. La prevalencia de CP fue de 0% en el sitio de referencia (F), 25% en el Sitio A y 42,8% en el Sitio B.

En base a nuestros resultados, se sugiere la capacidad de los invertebrados estudiados para actuar como portadores temporarios de CP presente en el ambiente y se proponen estos sistemas hospedador-patógeno como herramientas promisorias para el monitoreo de la contaminación cloacal en ambientes costeros.

## INOCUIDAD DE COMPOST DE RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS CON DISTINTAS EXPERIENCIAS DE COMPOSTAJE

Rivero G<sup>1</sup>, Portela G<sup>1</sup>, Dublan MA<sup>1</sup>, Galizio R<sup>1</sup>, Mestelan S<sup>2</sup>, Lett L<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Integrado de Microbiología Agrícola y de Alimentos (LIMAY), <sup>2</sup>Laboratorio de Análisis de Suelos. Facultad de Agronomía, UNCPBA, Azul, Buenos Aires, Argentina. Email: [linalett@hotmail.com](mailto:linalett@hotmail.com)

La problemática de los residuos sólidos urbanos domiciliarios (RSUD) generados por las sociedades modernas es de gran interés entre los responsables de su gestión integral. Una alternativa para el abordaje de este problema es la tecnología de compostaje, donde la transformación del residuo orgánico sólido en compost permite la reducción y disposición final segura de esta fracción. El objetivo de este trabajo fue evaluar la inocuidad de dos procedimientos de compostaje bajo estudio, sometidos a diferentes tiempos de maduración. Las experiencias fueron realizadas en plantas de tratamiento de RSUD de municipios con menos de 50 000 habitantes localizados en la provincia de Buenos Aires. Se analizaron cinco compost, entre estos, tres fueron lombricompostos que resultaron de un proceso de compostaje en pilas diarias con volteos programados, agregado de lombrices y tres diferentes tiempos de maduración en una trinchera (6, 12 y 24 meses); los otros dos, procedieron de una trinchera estática madurada durante 24 ó 48 meses. Para todos los compost se analizó la concentración de *Escherichia coli* fecal (CF) con el método USEPA 1680. La verificación de la presencia de CF se realizó a partir de pruebas bioquímicas y amplificación con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del gen de la proteína de estrés *uspA*. Además, a partir de los aislados obtenidos a 44 °C y de cajas de aislamiento en EMB de enriquecimientos incubados a 37 °C se realizaron distintas PCR para los genes de virulencia *bfp*, *eae*, *stx1**stx2*, representativos de patotipos de *E. coli* productora de toxina Shiga [*Shiga toxin-producing E. coli* (STEC)] y *E. coli* entero-patógena [*enteropathogenic E. coli* (EPEC)] de importancia epidemiológica humana. Finalmente, el recuento de CF se correlacionó según Pearson (r) con parámetros fisicoquímicos y biológicos que permitieron establecer el estado de madurez y estabilidad de los compost ensayados. Si bien todos los procedimientos de compostaje exhibieron aceptables grados de madurez y estabilidad, los recuentos obtenidos se asociaron con la humedad del sustrato (r = 0,93), la respiración basal (r = -0,53) y el contenido de nitrato (r = 0,96) y amonio (r = -0,69). Solo el lombricompost de 6 meses mostró un valor superior al aconsejado ( $\log_{10} 3,23$  CF/g), y resultó con el mayor número de aislamientos (73 %); el 23 % restante correspondió al lombricompost con el procedimiento de 12 meses. Los recuentos en los lombricompostos exhibieron una relación negativa con el tiempo de maduración (r = -0,81). No se obtuvieron aislamientos de CF del lombricompost de 24 meses ni de las experiencias con una única trinchera. La presencia de STEC y EPEC no fueron confirmados, aunque no se puede descartar la ocurrencia de otros patotipos no abordados por este estudio. Las experiencias de lombricompostaje, aunque alcanzaron valores adecuados de madurez, exhibieron contaminación de origen fecal hasta el año. Nuestros resultados alertan sobre la necesidad de un mayor control de los procesos en sus diferentes etapas, entre estos, se propone verificar el cumplimiento de la etapa termofílica, y/o en el caso de emplear lombrices, evitar posibles fuentes de contaminación externa durante el agregado de las mismas.

## MONITOREO DE VARIABLES DE OPERACIÓN DE UN REACTOR BATCH PARA LA DEGRADACIÓN DE AGUAS DE SENTINAS DEL PUERTO DE MAR DEL PLATA

Nisenbaum M, Durruty I, Ceretta MB, Froilán JF, Murialdo SE

Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata. Email: mb\_ceretta@hotmail.com

Grupo de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata. Las aguas de sentina son residuos tóxicos compuestos principalmente por hidrocarburos (HC) y generados durante el funcionamiento normal de los buques. Por su toxicidad y la falta de tratamiento específico son una de las principales causas de contaminación por HC del Puerto de Mar del Plata, donde no existe un tratamiento *in situ*. Por lo tanto, es fundamental desarrollar un adecuado proceso de tratamiento para su aplicación a nivel local. Este grupo de investigación ha estado estudiando la aplicación del tratamiento biológico en reactores discontinuos con un consorcio autóctono de aguas de sentina. Los resultados han mostrado una degradación de aproximadamente el 70% de los hidrocarburos totales. Debido a la variabilidad presente en la composición de las aguas de sentina según el funcionamiento y el calado de los buques, en este trabajo se propuso como objetivo el monitoreo del crecimiento bacteriano con distintas variables de operación: residuos líquidos de sentina de distinta procedencia y a distintas concentraciones iniciales para su tratamiento. Se utilizaron muestras de buques de distinto calado: draga, buques costeros, buques de altura, y agua de sentina mixta (M) provista por la empresa recolectora local. Para los ensayos se utilizó un consorcio microbiano previamente enriquecido en este laboratorio en agua de mar esterilizada. Se utilizó un reactor discontinuo de banco de 2 litros con agitación a 150 rpm., en oscuridad y a 25° C. El crecimiento bacteriano en los distintos residuos se evaluó con una concentración inicial de sentina de 0,5% (v/v) y para el residuo M fueron 0,25%, 0,5% y 1% (v/v). Se estimaron los parámetros cinéticos a partir de los datos experimentales por regresión no lineal. Los parámetros  $\mu_{max}$  y  $K_s$  resultaron  $8,96 \times 10^{-2} \text{ d}^{-1}$  y  $1,574 \times 10^{-1} \text{ gr/l}$  respectivamente. Los distintos ensayos presentaron diferencias significativas en las curvas de crecimiento ( $p=3.96 \times 10^{12}$ ,  $p=3.68 \times 10^{16}$ ). La biomasa bacteriana creció relacionada a la cantidad de sentina inicial presente en el medio. Las concentraciones máximas de microorganismos fueron de  $1 \times 10^7$  UFC/ml,  $4 \times 10^7$  UFC/ml y  $5 \times 10^7$  UFC/ml, para los ensayos con 0,25%, 0,5% y 1 % (v/v) de residuo M respectivamente. Con el agua de sentina M, el consorcio bacteriano presentó el mayor desarrollo de microorganismos, disminuyendo con los residuos de buques costeros, draga y altura respectivamente. De acuerdo a estos resultados, para la biodegradación de aguas de sentina en reactores discontinuos es conveniente la mezcla de volúmenes de sentinas provenientes de los distintos buques en lugar de su tratamiento por separado, y su operación con una concentración inicial de efluente de 0,5% (v/v), cuyo rendimiento fue de  $(\frac{Y_x}{S}) 2,9 \times 10^{10} \text{ UFC/g}$ . Los resultados son promisorios con una reducción de HC totales del 70% para estas condiciones de operación.



## TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES TEXTILES POR CONSORCIO BACTERIANO AUTÓCTONO

Ceretta MB; Durruty I; González JF; Wolski EA

Grupo de Ingeniería Bioquímica, Fac. Ingeniería, Univ. Nacional de Mar del Plata.

Email: mb\_ceretta@hotmail.com

La industria textil genera uno de los efluentes más difíciles de tratar, debido a su gran toxicidad e intensa coloración. El uso de mordientes durante el proceso ocasiona un elevado pH y una alta salinidad; además la presencia de azo-colorantes genera un intenso color. La biodegradación surge como una alternativa de tratamiento de bajo impacto ambiental. En el presente trabajo se aislaron microorganismos de una planta de teñido y se evaluó su capacidad para decolorar el efluente. Asimismo se analizó la toxicidad del efluente luego del tratamiento biológico. Se realizaron hisopados de la cámara de inspección y se tomaron muestras del efluente de una planta de teñido de la ciudad de Mar del Plata. Se utilizaron medios de cultivo específicos para aislar cepas fúngicas y bacterianas. No se observó crecimiento fúngico, mientras que sí se logró aislar un consorcio bacteriano. El efluente solo o con la adición de distintas fuentes de carbono, se inoculó con el consorcio aislado y se incubó a 28 °C durante 96 hs., con y sin agitación. La decoloración se evaluó midiendo la absorbancia del efluente a 480 nm a intervalos regulares. Se utilizó efluente sin inocular como control. El consorcio aislado mostró gran capacidad para decolorar el efluente en condiciones de reposo. El efluente sin fuente de carbono adicional (SS) mostró una decoloración del 76,47% con una velocidad inicial de degradación de 3,21 ppm/h, mientras que el suplementado con glucosa (SG) mostró una velocidad de decoloración 4 veces mayor (13,10 ppm/h), con una decoloración del 85,53%. El efluente suplementado con otras fuentes de carbono presentó valores de decoloración entre 83,03% y 63,95% y velocidades iniciales de degradación de entre 2,26 y 3,89 ppm/h. En todos los casos se observó, luego del tratamiento biológico, un descenso del pH de 11 a aproximadamente 7. La fitotoxicidad del efluente tratado se evaluó sobre la germinación de semillas de *Lactuca sativa* y sobre la elongación radicular. Las semillas se incubaron con el efluente sin tratar (ST) y tratado biológicamente. La longitud de la radícula en el control, incubado con agua destilada estéril, fue de  $1,97 \pm 0,07$  cm, mientras que la longitud en ST fue de  $0,45 \text{ cm} \pm 0,02$ ; para SG de  $0,90 \pm 0,03$ ; y SS de  $0,76 \pm 0,03$  cm. Los porcentajes de germinación fueron de: 62,79% para ST y SG, y 51,16 % para SS. El consorcio aislado demostró gran eficiencia para decolorar el efluente así como también para disminuir su pH, lo que permite su vertido directo. Los resultados de decoloración, en ausencia de una fuente auxiliar de carbono, sugieren que el consorcio bacteriano no solo decolora el efluente sino que también lo degrada. Si bien, se observó una reducción en la fitotoxicidad del efluente tratado, está no alcanzó los valores del control, por lo que estudios adicionales de toxicidad son necesarios.

## BIOTRANSFORMACIÓN DE CROMO (VI) POR UNA CEPA BACTERIANA AUTÓCTONA EN EFLUENTES LÍQUIDOS Y AGUAS CONTAMINADAS

González AJ<sup>1</sup>, Gorino N<sup>1</sup>, Caimán C<sup>1</sup>, Papalia M<sup>2</sup>, Radice M<sup>2</sup>, Gutkind G<sup>2</sup>, Korol S<sup>1</sup>, Gallego A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Salud Pública e Higiene Ambiental. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 1113, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, <sup>2</sup>Laboratorio de Resistencia Bacteriana. Cátedra de Microbiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 1113, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Email: julietagonzalez@ffyb.uba.ar

La contaminación de los ecosistemas acuáticos por metales pesados ha generado una creciente preocupación debido a su toxicidad y persistencia en el ambiente, propiedades que conllevan importantes riesgos para la salud humana y para los organismos acuáticos. La principal fuente de contaminación por metales pesados es el vertido de los efluentes líquidos generados por la actividad de diversas industrias, por lo que el control de estos vertidos así como la mejora de los sistemas de tratamiento son fundamentales para prevenir la contaminación. La biotransformación de metales pesados por microorganismos autóctonos específicamente seleccionados constituye una alternativa eficaz, económica y de bajo impacto ambiental que puede ser empleada tanto para la depuración de efluentes líquidos como para la remediación de sitios contaminados. En trabajos previos se seleccionó a partir de aguas superficiales de la Cuenca Matanza-Riachuelo una cepa bacteriana resistente a altas concentraciones de cromo (VI) y capaz de transformar este metal en medios de cultivo complejos. Los objetivos de este trabajo fueron identificar la cepa bacteriana y evaluar su capacidad para transformar Cr (VI) en efluentes líquidos y aguas contaminadas. La identificación de la cepa bacteriana se llevó a cabo por secuenciación del gen del ARN ribosomal 16S. Los ensayos de biotransformación se realizaron en frascos Erlenmeyer conteniendo 100 mL de un efluente proveniente de una industria galvanoplástica o 100 mL de agua subterránea contaminada. En ambos casos se adicionaron 10 g L<sup>-1</sup> de extracto de levadura como fuente de carbono. La concentración inicial de Cr (VI) fue de 75 y 8 mg L<sup>-1</sup> respectivamente. Los frascos Erlenmeyer fueron incubados en un baño termostatzado a 28 °C, con agitación (200 rpm). La concentración de Cr (VI) se determinó por la técnica colorimétrica de la difenilcarbazida y el crecimiento bacteriano se estimó por la técnica de recuento en placa, empleando agar tripteína soja (TSA). La secuenciación del gen del ARN ribosomal 16S permitió identificar a la cepa autóctona como *Microbacterium* sp. con una identidad de 99%. Los ensayos de biotransformación demostraron que *Microbacterium* sp. fue capaz de reducir Cr (VI) tanto en el efluente como en agua contaminada dentro de las 72 y 24 h respectivamente, con eficiencias de 99,6% y superior a 97,5% respectivamente. La capacidad de la cepa bacteriana autóctona seleccionada para reducir Cr (VI) podría ser empleada para optimizar los sistemas de depuración de efluentes líquidos y de remediación de aguas contaminadas.

## DINÁMICA DE LA COMUNIDAD MICROBIANA ASOCIADA AL TRATAMIENTO ANAERÓBICO DE EFLUENTES

Spatola Rossi T<sup>1,2</sup>, Figuerola ELM<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Inst. de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular -INGEBI-CONICET,

<sup>2</sup>Dpto. de Fisiología, Biología Molecular y Celular -DFBMC-FCEN-UBA. Email: tatisrossi@hotmail.com

La digestión anaeróbica de efluentes con alta carga orgánica resulta más conveniente frente al tratamientos aeróbicos ya que no requiere gasto de energía para aireación y permite la recuperación de biogás. Este tipo de tratamiento, si bien es empleado en nuestro país para el tratamiento de efluentes de algunas industrias, funciona en muchos casos en condiciones subóptimas impidiendo el aprovechamiento de su potencial y sufriendo en ocasiones de fallas o inhibiciones que requieren largos tiempos de recuperación. Esto es en parte debido a que el manejo de los digestores anaeróbicos se realiza en forma empírica, controlando unos pocos parámetros operativos y desconociendo la compleja microbiología involucrada en el proceso.

Considerando que el consorcio microbiano responsable de la biodegradación de la materia orgánica determina las características del sistema a macroescala, y que existen evidencias de que la estructura y dinámica de la comunidad microbiana están asociadas a los parámetros operativos del reactor y a su eficiencia, nuestra hipótesis es que el conocimiento de la dinámica de la comunidad microbiana que habita dentro del digestor será de utilidad para optimizar su manejo y la respuesta a perturbaciones del sistema.

En este trabajo se procedió al estudio de los consorcios microbianos pertenecientes a dos digestores anaeróbicos de distinta configuración (UASB y contacto) dedicados al tratamiento de aguas residuales de una planta cervecera. Ambos reactores funcionan en paralelo durante la época de alta producción, mientras que durante el invierno el reactor UASB permanece desconectado. Se diseñó un esquema de muestreos trimestrales para analizar la dinámica de las comunidades microbianas mediante geles de gradiente desnaturizante (DGGE) utilizando el gen del ADN<sub>r</sub> 16s como marcador para bacteria, y el gen *mcrA*, que codifica para la metil coenzima A reductasa presente en la arqueas metanogénicas. Los resultados indicaron una mayor diversidad bacteriana que de arqueas. Los perfiles de DGGE de bacterias no agrupan de acuerdo al reactor de origen, lo que sugiere una mayor importancia relativa de otras variables ambientales predominantes en el momento del muestreo, o alta redundancia funcional. En cambio, el análisis multivariado de los perfiles de DGGE de *mcrA* de arqueas permitió agrupar las muestras de acuerdo al reactor de procedencia. Resulta interesante notar que se encontraron correlaciones significativas entre las matrices de datos biológicos y operativos correspondientes a poblaciones que responden en forma positiva y negativa al aumento del pH, alcalinidad y DBO de salida. Estas correlaciones indican la dependencia de algunos miembros del consorcio microbiano con los parámetros físico-químicos y la eficiencia del sistema. Las bandas pertenecientes a estas poblaciones han sido recortadas y enviadas a secuenciar para obtener información acerca de su afiliación filogenética.

## ESTUDIO DE LA FUNCIONALIDAD DE CONSORCIOS DEFINIDOS DURANTE LA DEGRADACIÓN DE FENANTRENO

Macchi M<sup>1</sup>, Festa S<sup>1</sup>, Morelli IS<sup>1,2</sup>, Coppotelli BM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina, <sup>2</sup>Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina Email:bibicoppotelli@gmail.com

La generación de cultivos microbianos mixtos que combinen sus capacidades enzimáticas puede ser una herramienta adecuada para resolver problemas de contaminación ambiental, aunque poco se sabe acerca de los mecanismos que intervienen en la cooperación mutua.

Este trabajo pretende dilucidar las contribuciones individuales a la actividad degradadora de un consorcio natural (CON), obtenido de un suelo crónicamente contaminado con PAH, en función del estudio de las capacidades de consorcios definidos construidos a partir de los microorganismos aislados del consorcio. Complementariamente se prepararon consorcios con la cepa degradadora *Sphingomonas paucimobilis* (20006FA), exógena a CON, taxonómica y filogenéticamente relacionada con la cepa de *Sphingobium* sp. (AM) (único aislado del CON degradador de PAH) y con mayor capacidad degradadora (90% en 4 días).

La pirosecuenciación de fragmentos del gen RNAr 16S de CON reveló que su composición bacteriana consiste en *Sphingomonadales*, *Burkholderiales*, *Rhodospirillales*, *Pseudomonadales*, *Enterobacteriales*, *Rhizobiales* y *Xanthomonadales*. Se prepararon 3 consorcios definidos: CON-1, constituido por AM, *Enterobacter* sp. (B), *Pseudomonas* sp. (T and Bc) e *Inquilinus* sp. (I); CON-2 con AM, B, T, Bc e I más 20006FA; CON-3 con B, T, Bc e I y 20006FA en reemplazo de AM. Los consorcios fueron cultivados en MML con 200 mg/L de fenantreno durante 15 días: se determinó la cinética de degradación de fenantreno y la generación de ácido 1-hidroxi 2-naftoico (AHN) (metabolito intermediario) (HPLC-UV), la dinámica de las poblaciones bacterianas cultivables mediante recuento total y diferencial de heterótrofas en R2A y degradadoras de PAH por el NMP y la diversidad genética mediante PCR-DGGE.

Los tres consorcios definidos alcanzaron una eliminación de fenantreno cercana al 94% luego de 4 días de incubación, significativamente superior a la obtenida por CON (35%) y el cultivo individual de la cepa AM (60%). Los cultivos de CON-2 y CON-3 (conteniendo la cepa exógena) mostraron un retraso inicial en la degradación de fenantreno y un incremento de AHN con respecto a CON-1. Mientras que en los tres el AHN fue rápidamente degradado, en el CON se mantuvo constante hasta el final del experimento. Al comparar la dinámica de poblaciones bacterianas cultivables se observaron claras diferencias que no se pudieron observar a nivel de la estructura genética (PCR-DGGE).

Los resultados obtenidos estarían indicando que la degradación de fenantreno en los consorcios definidos se produce a través de interacciones sintróficas, sin embargo en el consorcio natural CON podrían estar ocurriendo interacciones antagónicas con las poblaciones no cultivables que disminuyen la eficiencia de degradación. Por otro lado a pesar de que las cepas de la familia *Sphingomonadaceae* están estrechamente relacionadas, interaccionan de manera distinta con las otras especies presentes en el consorcio.

## EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL SURFACTANTE TRITON X-100 SOBRE LA CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE LOS PAH Y LA DINÁMICA DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DEL SUELO

Cecotti M<sup>1</sup>, Mora VC<sup>1</sup>, Coppotelli BM<sup>1</sup>, Viera M<sup>1</sup>, Morelli IS<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>CINDEFI (Facultad de Ciencias Exactas-UNLP-CCT-La Plata-CONICET), <sup>2</sup>CIC-PBA.  
Email: martinacecotti@hotmail.com

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) son contaminantes prioritarios debido a su hidrofobicidad y toxicidad. La aplicación de surfactantes, moléculas anfipáticas que aumentan la solubilidad en agua de compuestos hidrofóbicos, mejoraría la efectividad de los procesos de biorremediación de suelos crónicamente contaminados con PAH. Los resultados reportados hasta el momento han sido contradictorios; entre las causas que explicarían los ambiguos resultados se señalan: utilización del surfactante como fuente de carbono, toxicidad del surfactante, toxicidad del sistema por movilización de co-contaminantes y cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo.

Se estudió el efecto de la concentración del surfactante Triton X-100 sobre la degradación de PAH, su biodisponibilidad y el impacto sobre la comunidad microbiana de un suelo crónicamente contaminado con un residuo petroquímico.

Se prepararon 4 microcosmos de suelo, control y con surfactante a 26 (concentración micelar crítica), 14 y 11 mg/g<sub>TIERRA SECA</sub>, incubados durante 90 días (20% humedad, 24°C). Se analizó la concentración de hidrocarburos (GC-FID) y su biodisponibilidad (XAD-2 Amberlite), tensión superficial (tensiometría), recuentos de bacterias heterótrofas cultivables (R2A) y degradadoras de PAH (NMP) y pirosecuenciación de genes 16S rRNA a partir del ADN total del suelo.

Las concentraciones ensayadas disminuyeron la tensión superficial de una suspensión de suelo, siendo la disminución proporcional a la concentración del surfactante y constante en el tiempo del ensayo. La presencia de surfactante no afectó la biodisponibilidad de los PAH, ni modificó sustancialmente su cinética de degradación, sin embargo a los 63 días de incubación los microcosmos con surfactante mostraron valores remanentes de PAH significativamente menores al control. Al final del período de incubación todos los microcosmos alcanzaron un porcentaje de eliminación cercano al 85%.

Aunque no se observaron modificaciones en los recuentos bacterianos, los resultados de pirosecuenciación evidenciaron una dinámica diferencial de la comunidad bacteriana del suelo control con respecto a los tratamientos con surfactante. Los números de Hill para el suelo original mostraron una baja riqueza y diversidad de especies (<sup>0</sup>D:36; <sup>2</sup>D:2,31) con un alto predominio de *Pseudomonadales*. Luego de 14 días de tratamiento todos los microcosmos mostraron un significativo aumento en la riqueza y diversidad, con un incremento de los órdenes *Actinomycetales*, *Sphingomonadales* y *Rhizobiales*, entre otros. A los 63 días de tratamiento, mientras el microcosmos control retornó a sus condiciones iniciales, los microcosmos con surfactante mantuvieron una mayor riqueza y diversidad.

La mayor eliminación observada a los 63 días de tratamiento en los microcosmos con surfactante podría ser atribuida a los cambios observados sobre la dinámica de la comunidad bacteriana y no a un efecto directo sobre la biodisponibilidad de los PAH.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE NUEVAS BACTERIAS OXIDANTES DE MANGANESO (II)

Ciancio L<sup>1</sup>, Piazza A<sup>1</sup>, Pacini V<sup>2</sup>, Sanguinetti G<sup>2</sup>, Ingallinella AM<sup>2</sup>, Ottado J<sup>1</sup>, Gottig N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Ocampo y Esmeralda, Rosario, <sup>2</sup>Centro de Ingeniería Sanitaria Facultad de Ciencias Exactas, Ing. y Agrimensura, Universidad Nacional de Rosario. Email: [ciancio@ibr-conicet.gov.ar](mailto:ciancio@ibr-conicet.gov.ar)

La presencia de altas concentraciones de Manganeseo (Mn) en aguas subterráneas de consumo humano es un problema ampliamente distribuido en Argentina y en el mundo, ya que afecta su calidad desde el punto de vista de aceptabilidad, operativo y sanitario. En los últimos años, los métodos de remoción biológica de Mn han cobrado fuerza debido a su alta eficiencia y bajo costo. La biooxidación de Mn ha sido adjudicada a diversas bacterias tales como *Leptothrix discophora*, *Pseudomonas putida* y *Bacillus spp.*, entre otras. Esta amplia variedad filogenética refleja la diversidad fisiológica de las bacterias oxidantes de Mn (II) (BOMn) y, aunque la función de la oxidación biológica de Mn (II) continúa siendo enigmática, la presencia generalizada de óxidos de Mn en una miríada de nichos ecológicos sugiere que la diversidad microbiana es aún mucho mayor. Este trabajo tiene como objetivo el aislamiento e identificación de nuevas BOMn provenientes de las plantas de tratamiento de remoción biológica de Hierro (Fe) y Mn (BioCIS-UNR®) ubicadas en la provincia de Santa Fe. Para la selección de BOMn, se buscó en la literatura medios de cultivo apropiados y finalmente se decidió trabajar con tres: "PC", "Lept" y "Mn". En estos medios, la capacidad de oxidación se detectó por una coloración oscura en los centros o bordes de las colonias que solo se observa en presencia de Mn. En ausencia de Mn las colonias no presentan esta coloración. Los aislamientos que presentaron una alta capacidad de oxidación de Mn fueron identificados utilizando métodos moleculares. Se amplificó por reacción de PCR el gen que codifica por el ARNr 16S utilizando oligonucleótidos universales. Los amplicones de 1500pb obtenidos se secuenciaron y las secuencias resultantes se analizaron mediante la comparación con bases de datos específicas: Ribosomal Database Project y GenBank, las cuales arrojaron resultados idénticos en todos los casos. Además, se realizaron estudios complementarios de Biotyping usando MALDI-TOF para corroborar la identificación previa. Finalmente, se llevaron a cabo análisis filogenéticos moleculares basados en la secuencia del ARNr 16S utilizando el programa PhyML 3.0. Hasta el momento, se identificaron 166 bacterias pertenecientes a distintos géneros, algunos de los cuales aún no han sido asociados a procesos de oxidación de Mn. Dado que la metodología descrita en este trabajo ha permitido aislar e identificar exitosamente nuevos géneros bacterianos involucrados en la oxidación de Mn, estudios futuros contribuirán al entendimiento del rol de la oxidación de Mn(II) en la evolución bacteriana.

## INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS BACTERIANAS DEGRADADORAS DE PETRÓLEO CRUDO EN MATRICES ORGÁNICAS NATURALES Y SINTÉTICAS

Reyes RMA<sup>1,2</sup>, López DFE<sup>1</sup>, Casanova MEL<sup>1</sup>, Castillo VGA<sup>1,3</sup>, Puentes CEA<sup>1,4</sup>, Panqueva ÁJH<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Corporación para la investigación de la corrosión CIC, Colombia. <sup>2</sup>Universidad industrial de Santander UIS, <sup>3</sup>Applied Microbiology and Genomics Georg-August University Göttingen, <sup>4</sup>Max Planck institute for Marine Microbiology. Email: mreyes@corrosion.uis.edu.co

Actualmente para mitigar los efectos de contaminación de aguas y suelos, se utilizan tratamientos biológicos, conocidos también como biorremediación. La forma tradicional para la recuperación de ambientes contaminados con hidrocarburos, emplean microorganismos libres. Sin embargo la incorporación de estos en los sistemas de tratamiento tiene limitaciones. La inmovilización de microorganismos mediante matrices inertes, constituye una alternativa que permite trascender dichas limitaciones. Por tal razón, se realizó un estudio utilizando un consorcio bacteriano aislado de lodos aceitosos de un campo petrolero colombiano, para su inmovilización en diferentes matrices. La metodología consistió en aislar cepas bacterianas nativas de lodos contaminados con crudo, para evaluar la viabilidad de las cepas en un medio basal de sales con petróleo como única fuente de carbono, durante un tiempo de 72 horas a temperatura ambiente y 150 r.p.m., y así seleccionar las cepas con capacidad de degradar el contaminante y formando un consorcio de bacterias degradadoras de hidrocarburos (BDH), para luego inmovilizarlas, en diferentes matrices orgánicas de origen natural (encapsulación por microgoteo de alginato de sodio 2%, 2.5%, 3% y 4%) y sintético (adhesión en 14 matrices de poliuretano sólido y espumas biodegradables y no biodegradables). La inmovilización en las capsulas de alginato se determinó por recuento en microgota, y la inmovilización en las matrices de poliuretano se determinó por peso seco y Microscopía Electrónica. El resultado obtenido fue, 29 cepas nativas aisladas, de las cuales 5 cepas viables fueron seleccionadas por diferencias en su morfología macroscópica de la colonia, se identificaron los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Raoultella* y *Enterobacter*. Este consorcio se inmovilizó en las diferentes matrices, teniendo como resultado para la encapsulación de alginato una mayor biomasa en la concentración 3% con  $8.01 \times 10^7$  UFC/g. Y en la adhesión a las matrices de poliuretano se obtuvo mayor biomasa en la espuma con aceite de ricino biodegradable codificada con el número 10, con 128.04 mg/0.5 g de matriz. Los datos se procesaron mediante análisis de varianza ANOVA simple, en StatgraphicsCenturionXVII.I. La inmovilización del consorcio BDH fue efectiva en matrices orgánicas tanto naturales como sintéticas, encontrando que, independiente de la concentración del alginato, el inóculo inmovilizado no entra en contacto con el medio exterior, actuando la matriz como una barrera de protección. Por otra parte, el consorcio bacteriano se adhirió a todas las matrices de poliuretano estudiadas formando una biopelícula en la superficie. El resultado es útil para aplicar dichas matrices biodegradables con bacterias inmovilizadas para biorremediar muestras contaminadas en otros estudios.

## HUMEDALES: UNA ALTERNATIVA PARA EL RE USO DEL AGUA

Farrando S<sup>1</sup>, Dediol C<sup>1</sup>, Stocco A<sup>2</sup>, Bianchini L<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cat. Microbiología, F.C. A., UNCuyo, Argentina, <sup>2</sup>Cat. Qca. Analítica, F.C. A., UNCuyo, Argentina,  
<sup>3</sup>Depura, Tratamiento y re uso de agua. Email: sfarrando@fca.uncu.edu.ar

Mendoza atraviesa una crisis hídrica desde hace años en sus ríos de régimen nival, como efecto de la escasez de nevadas durante las temporadas invernales. La recolección de las aguas grises domiciliarias por un servicio centralizado elimina la posibilidad de contaminación de suelos, cursos de agua y napas subterráneas. Los vecinos del Barrio Los Ceibos en Luján de Cuyo, Mendoza, carecen de cloacas y vuelcan las aguas grises en las acequias. Debido a que la misma se acumula frente a las casas de la zona más baja de la manzana, han construido tapones frente a cada inmueble, para que no circule el agua. Esto produce olores y aspecto desagradable, peligro para la salud, etc. Con el objetivo de tratar el efluente domiciliario se planteó la construcción de un Sistema de Depuración Natural (SDN). Se analizaron los distintos SDN. Se determinó la calidad y cantidad de efluente tomando muestras en tres puntos de la cuadra y se encuestó a los frentistas. Se evaluó la calidad microbiológica del agua de cada casa. Se decidió la construcción de un humedal de flujo sub-superficial, uno de los más eficientes y tiene como ventajas el aprovechamiento del agua tratada para riego, bajo costo de obra, baja probabilidad de dejar de funcionar, mínimas labores de mantenimiento, ausencia de olores y proliferación de mosquitos, integración al paisaje, amortiguación de inundaciones y recarga de aguas subterráneas. Se eligió el lateral este de la calle Costa Flores como el lugar para su ubicación teniendo en cuenta la pendiente del terreno. Se solicitó interferencias con los distintos servicios públicos y autorización a la Dirección Provincial de Vialidad (DPV), quien tiene injerencia sobre la calle mencionada. Se encuestó al 98 % de los frentistas de los cuales 84 son mayores y 21 menores, el 88 % utiliza lavarropas automático, el 68 % emplea lavandina y enjuagues para la ropa y el 28 % usa limpia cañerías. Todos poseen agua de red que cumple con la normativa del CAA para agua potable. El 32 % realiza más de un lavado diario, el 20 % uno diario y el 44 % uno cada dos días. Los resultados de la muestra de agua gris fueron DQO: 460 mg/l; pH: 6,5; Nitrógeno amoniacal: 12 mg/l; Ortofosfatos: 2 mg/l; Conductividad: 1300  $\mu$ siemens. No existe interferencia subterránea con los servicios públicos y la DPV autorizó la construcción con la observación de colocar un guardarrail. EDEMSA solicitó que la vegetación no supere los 2 m, debido a que el terreno elegido es parte de un electroducto de media tensión. Según el caudal estimado se calculó un tamaño del humedal de 8 x 2 x 1,5 m, el cual se impermeabilizará con una membrana geotextil, se llenará con grava y se implantará una vegetación adaptada a la zona extraída de un humedal natural. El agua tratada podrá ser vertida a una finca aledaña. Este proceso de tratamiento de aguas residuales "amigable" con el ambiente permitirá mejorar la calidad de vida de los vecinos y re usar el agua.



DEGRADACIÓN DE AMOXICILINA POR UNA COMUNIDAD BACTERIANA  
AUTÓCTONA

Fortunato MS, Baroni S, González J, Álvarez Roncancio J, Laurino Soule J, López EL, Korol S,  
Gallego A

Cátedra de Salud Pública e Higiene Ambiental. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de  
Buenos Aires. Junín 956, (1113), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

E-mail: mfortunato@ffyb.uba.ar

Los residuos de medicamentos son considerados contaminantes emergentes del agua subterránea y superficial, un ejemplo de ello lo constituyen los antibióticos. La amoxicilina es uno de los antibióticos más utilizados desde hace varios años en medicina humana y veterinaria. Debido a la insuficiente remoción obtenida mediante el empleo de los métodos convencionales de tratamiento de efluentes, la amoxicilina puede llegar a las aguas superficiales y subterráneas generando resistencia microbiana. El objetivo del presente trabajo fue: a) seleccionar bacterias autóctonas capaces de degradar amoxicilina como única fuente de carbono y energía con el fin de ser aplicadas en procesos de remediación de aguas contaminadas. b) evaluar la eficiencia del proceso de biodegradación. La selección bacteriana se efectuó en reactores *batch* de 1 L de capacidad, alimentados con agua del Río de la Plata proveniente de Punta Lara con el agregado de amoxicilina en condiciones ambientales. Los ensayos de biodegradación se realizaron en frascos Erlenmeyer incubados en baño termostático (28 °C) con agitación (200 rpm) utilizando medio mínimo mineral con el agregado de 100 y 200 mg/L de amoxicilina como única fuente de carbono y energía. El proceso de biodegradación fue evaluado mediante la determinación de la concentración del compuesto por espectrofotometría UV (230 nm) y el crecimiento microbiano por la técnica de recuento en placa de Petri. La eficiencia del proceso fue expresada como porcentaje de remoción de la Demanda Química de oxígeno (DQO). Se seleccionó una comunidad bacteriana compuesta por dos cepas, las mismas fueron identificadas con el sistema API 20 NE como pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Ochrobactrum*. La comunidad bacteriana fue capaz de degradar 100 y 200 mg/L de amoxicilina dentro de las 48 horas y los porcentajes de remoción de DQO fueron de 74% y 80% respectivamente. Los resultados obtenidos permiten prever el potencial empleo de las cepas autóctonas seleccionadas en la remediación de aguas o en sistemas de tratamiento biológico de efluentes líquidos contaminados con amoxicilina.

Este trabajo forma parte del Proyecto Código: 20020130100378BA Programación Científica UBACYT 2014-2017 GC

## EFFECTO DE ENZIMAS BACTERIANAS DESNITRIFICANTES Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN REMEDIACIÓN BIOLÓGICA DE AGUA

García MC, Bruschi J, Alonso M, Romanelli A, Sansinanea A.

Facultad de Ciencias Veterinarias - UNCPBA- TANDIL. Email: garciamace65@gmail.com

La calidad del agua está definida microbiológica y químicamente por los componentes presentes en ella. Desde el punto de vista químico uno de los contaminantes más comunes en agua de consumo, tanto humano como animal, son los nitratos. Estos compuestos en altas concentraciones provocan toxicidad al animal, causando hipoxia, cianosis y abortos. La concentración de los mismos debe mantenerse entre los valores aceptados por el Código Alimentario Argentino (CAA), especialmente cuando el agua de bebida animal es la misma que la destinada al consumo humano.

Una alternativa para el tratamiento de aguas contaminadas es la desnitrificación biológica. En este proceso los microorganismos pueden utilizar el nitrato y transformarlo en nitrógeno gaseoso y dióxido de carbono que retornan al medioambiente. Existe una gran variedad de microorganismos y cada uno de ellos posee condiciones particulares para llevar a cabo este proceso exitosamente. Trabajos previos dan cuenta que el género *Pseudomonas* es uno de los más utilizados en este tipo de procesos.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar y evaluar la acción catalítica de enzimas desnitrificantes de *P. stutzeri* para su aplicación en remediación de agua.

Se utilizó una cepa de *Pseudomonas stutzeri* previa determinación cualitativa de acción desnitrificante por el método de sulfanilamida y formación de burbuja en campana de Durham. Se expandió el cultivo a partir de un preinóculo en caldo nitrato a 26°C *overnight*.

Se incubó caldo nitrato con 10% del inóculo obtenido anteriormente y se determinó la curva de crecimiento por turbidimetría (DO 600 nm), recuento de bacterias viables sobre medio KingB, indicado como unidades formadoras de colonia/ml (UFC/ml) y concentración de proteínas bacterianas por método de Bradford, cada 2 hs por un período de 30 hs. Simultáneamente se determinó presencia/ausencia de nitritos por el método de sulfanilamida. Concentraciones similares de proteína bacteriana obtenida en los diferentes tiempos de cosecha, se enfrentaron a 5 ml de solución estándar de nitrato (100 mg/l) incubando a 26°C durante 24hs. La acción desnitrificante de las enzimas bacterianas se determinó por medición del sustrato no transformado (nitrato y nitrito) por kit comercial AQAssay GT Lab.

En base a la curva de crecimiento se seleccionó el rango de 18 a 28 hs de cultivo como período de tiempo en estudio, determinándose el comienzo de la fase estacionaria a partir de las 28 hs. Este tiempo es coincidente con la mayor concentración proteica  $8 \pm 0,28$  mg/ml correspondiendo a  $10^{11}$  UFC/ml, si bien la viabilidad fue superior a las 24 hs con  $10^{12}$  UFC/ml. El sustrato inicial, 100 mg/l de nitrato, disminuyó en todos los tiempos del período seleccionado, observándose el mayor efecto deseado con la cosecha de las 24 hs logrando valores de  $28,4 \pm 0,9$  mg/l, dentro de los límites aceptados por el CAA. En el período de 22 a 26 hs se lograron las menores concentraciones de nitritos, producto de la desnitrificación,  $0,72 \pm 0,03$ ;  $0,62 \pm 0,04$  y  $0,76 \pm 0,07$  mg/l respectivamente, si bien estos valores estuvieron por encima del valor aceptable en agua de consumo (0,1 mg/l) según CAA.

La mayor actividad desnitrificante de las enzimas nitrato y nitrito reductasa se determinó a las 24 hs. Este tiempo de cosecha fue seleccionado para llevar a cabo en forma complementaria ensayos de encapsulación en alginato de sodio. Futuros estudios son necesarios para optimizar y disminuir la concentración final de nitritos para su aplicación en la remediación biológica de agua.

AISALMIENTO DE CEPAS NATIVAS DE HONGOS SAPROBIOS EN LA CUENCA  
MATANZA-RIACHUELOFernández Di Pardo A, Ghezso D, Cisneros G, Recchi M, Rodríguez MA

Lab. Microbiología del Suelo –Depto. de Biodiversidad y Biología Experimental - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad de Buenos Aires. Email: danifergh@gmail.com

La cuenca Matanza-Riachuelo constituye un territorio que se extiende desde el borde de la llanura pampeana hasta el río de La Plata y que contiene al más denso núcleo urbano-industrial del país. Es considerada una de las cuencas con mayor nivel de contaminación de Latinoamérica, siendo uno de los principales problemas, la presencia de metales pesados. La fitorremediación comprende un conjunto de tecnologías que reducen *in situ* y *ex situ* la concentración de diversos compuestos a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y los microorganismos asociados a ellas. Esta estrategia de biorremediación es utilizada en la remoción de metales pesados del medio. Los microorganismos del suelo, en particular los hongos, pueden aumentar la eficacia de la fitorremediación, ya sea aumentando la superficie de absorción de las raíces, como ocurre en el caso de los hongos endófitos o aumentando la biodisponibilidad del contaminante en el suelo (saprobios). Además, pueden acumular metales pesados en el interior de sus hifas.

Partiendo de la hipótesis de que existen especies de hongos del suelo capaces de acumular metales pesados y que podrían ser utilizados para reducir la contaminación ambiental, se plantea el siguiente objetivo: Aislar e identificar taxonómicamente hongos saprobios tolerantes a metales pesados a partir de suelo de la cuenca Matanza-Riachuelo.

Se recolectaron muestras de suelo de la orilla del Puente Bosch del Partido de Avellaneda, situado en la cuenca Matanza-Riachuelo. Las cepas de hongos saprobios fueron aisladas a partir del suelo recolectado, siguiendo la técnica de lavado para muestras múltiples. Los hongos obtenidos fueron identificados taxonómicamente a nivel de género y se determinó la frecuencia de aparición de cada uno de ellos. Aquellos aislamientos que no presentaron estructuras de reproducción fueron agrupados de acuerdo a características de la colonia en morfotipos (color y textura de la colonia y color de anverso y reverso de la colonia).

Se obtuvieron 111 aislamientos fúngicos a partir de 120 partículas de suelo. Las frecuencias de aparición de los hongos fueron: *Fusarium*: 40,83%; Morfotipo 1 (colonia algodonosa blanca, reverso de la colonia marrón): 15%; Morfotipo 3 (colonia pulverulenta blanca, reverso marrón): 12,5%; Morfotipo 7 (micelio dematiáceo): 5,83%; *Trichoderma*: 5,83%; Morfotipo 6 (colonia pulverulenta, con micelio aéreo abundante, grisácea, revés claro): 4,16%; Morfotipo 2 (colonia algodonosa blanca, reverso rosado): 3,33%; *Aspergillus* (2,5%); Morfotipo 4 (colonia algodonosa blanca, reverso amarillo): 0,83%; Morfotipo 5 (colonia pulverulenta rosada, reverso claro): 0,83%; levaduriforme color naranja: 0,83%.

El género que aparece con mayor frecuencia es *Fusarium*, lo que sugiere que probablemente sea capaz de tolerar concentraciones elevadas de metales pesados. Por esta razón los aislamientos del mencionado género podrían ser utilizados para aumentar la eficacia en estrategias de fitorremediación, al translocar metales pesados a las plantas o aumentar su biodisponibilidad en el suelo.

## REDUCCIÓN DE CROMO (VI) POR MICROORGANISMOS RESISTENTES PROVENIENTES DEL RÍO DE LA PLATA

González AJ, Gorino N, Fortunato MS, Rossi S, Gallego A, Korol S

Cátedra de Salud Pública e Higiene Ambiental. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 1113, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Email: julietagonzalez@ffyb.uba.ar

El cromo (Cr) es un metal de transición que puede llegar a los ecosistemas acuáticos como Cr (VI) o Cr (III) a través del vertido de efluentes líquidos de diversas industrias. El Cr (VI) es una especie mucho más soluble y de mayor movilidad ambiental que el Cr (III), por lo tanto presenta mayor toxicidad para los organismos vivos. El tratamiento de efluentes que contienen Cr (VI) puede llevarse a cabo por procesos biológicos que involucran mecanismos como la transformación. Este es el caso de la reducción de Cr (VI) a Cr (III), que ha sido descripta en algunas especies bacterianas. En trabajos previos se seleccionaron a partir de muestras de agua provenientes del Río de la Plata cinco cepas bacterianas capaces de reducir Cr (VI) a Cr (III). Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la resistencia de cada una de las cepas seleccionadas a Cr (VI) y estudiar las cinéticas de reducción de este metal. Para evaluar la resistencia bacteriana a Cr (VI) se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM), que puede definirse como la mínima concentración de metal que produce inhibición del crecimiento bacteriano. Este ensayo se llevó a cabo en microplacas de 96 pocillos con 250  $\mu\text{L}$  de caldo nutritivo (CN) adicionado con cromato de potasio, de modo de obtener concentraciones de Cr (VI) entre 4  $\text{mg L}^{-1}$  y 1000  $\text{mg L}^{-1}$ . Los pocillos fueron inoculados con 20  $\mu\text{L}$  de un cultivo de 24 horas de cada uno de los microorganismos, y las placas se incubaron a 28 °C durante 24 horas. Las cinéticas de reducción de Cr (VI) se realizaron en frascos Erlenmeyer con 100 mL de medio mínimo (MM) adicionado con 10  $\text{g L}^{-1}$  de extracto de levadura como fuente de carbono. La concentración inicial de Cr (VI) fue de 25  $\text{mg L}^{-1}$ . Los frascos Erlenmeyer fueron incubados durante 72 horas en un baño termostático a 28 °C, con agitación (200 rpm). La concentración de Cr (VI) se determinó por la técnica colorimétrica de la difenilcarbazida y el crecimiento bacteriano se estimó por la técnica de recuento en placa, empleando agar tripteína soja (TSA). Las cinco cepas bacterianas presentaron una elevada resistencia a Cr (VI), con valores de CIM entre 250  $\text{mg L}^{-1}$  y 1000  $\text{mg L}^{-1}$ . Tres de ellas fueron capaces de reducir este metal con una eficiencia superior a 99,2% dentro de las 52 horas, mientras que las cepas restantes sólo alcanzaron una eficiencia de reducción de 70% al cabo de 72 horas. Los resultados obtenidos demuestran la elevada resistencia bacteriana a Cr (VI) en el Río de la Plata. Asimismo muchos de estos microorganismos ambientales presentan un gran potencial para ser empleados con fines biotecnológicos, tales como la depuración de efluentes líquidos y la remediación de sitios contaminados.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE CEPAS BACTERIANAS EN TRATAMIENTOS DE FITORREMIEDIACION EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBURO.

Badariotti EH<sup>1</sup>, Sayago P<sup>2</sup>, Rollan R<sup>1</sup>, Canullo R<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fac. Cs. Agropecuarias, Univ. Católica de Córdoba (UCC), <sup>2</sup>Área de Cs. Agrarias, Ingeniería, Cs. Biológicas y de la Salud de la Universidad Católica de Córdoba Unidad Asociada a CONICET,

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Ambientali, Univ. di Camerino (UNICAM), Camerino, Italia.

Email: estebanbadariotti@gmail.com

## Introducción:

La contaminación de los suelos por hidrocarburos tiene un pronunciado efecto sobre las propiedades de los mismos, con procesos de salinización, de toxicidad sobre los microorganismos y mortandad de la vegetación por efectos fitotóxicos. En los últimos años ha cobrado gran importancia la utilización de métodos biológicos para la “limpieza” de sitios contaminados, dentro de ellos incluimos el de la fitorremediación.

Las tecnologías que utilizan los principios de fitorremediación son útiles para tratar gran variedad de contaminantes. El uso de plantas y el de microorganismos asociados, para extraer, secuestrar, detoxificar, degradar y disminuir el contenido de hidrocarburos en suelos, son algunas de las ventajas que esta técnica posibilitaría.

## Metodología:

Los objetivos del ensayo han sido el de aislamiento e identificación de cepas bacterianas “autóctonas”, obtenidas en suelos contaminados con “gasoil”, estudiando el efecto fitorremediador juntamente con la especie *Medicago sativa* (“alfalfa”).

Se destinaron parcelas a campo con y sin cultivo para el control. Se determinó periódicamente el desarrollo del contenido total de bacterias por gramo de suelo seco estimando la cantidad de UFC (unidades formadoras de colonias) en dos tratamientos de concentraciones del contaminante: 1600 y 6500 mg/kg de suelo seco. La identificación de las distintas cepas bacterianas se realizó mediante la técnica de MALDI-TOF.

La reducción en la cantidad de hidrocarburo obtenida al final del ensayo se determinó mediante la técnica de extracción por centrifugación-evaporación y por el método gravimétrico.

## Resultados:

Las pruebas bioquímicas evaluadas permitieron identificar las cepas bacterianas: *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chryseobacterium gleum* y *Serratia marcescens*.

Para el presente estudio se determinó una reducción de hasta el 50% en la concentración del contaminante, en el periodo de 120 días que duró el ensayo.

## Discusión:

El conocimiento científico acerca del papel que desempeñan los microorganismos en el tratamiento de agentes contaminantes del medio ambiente como el petróleo, es esencial para prevenir y controlar los daños que puedan ocasionar los derrames o fugas de estos contaminantes. La degradación de petróleo es un proceso que puede ocurrir de forma natural por los microorganismos nativos de las zonas contaminadas aprovechando sus rutas metabólicas. Por esta razón, en estos momentos se prevé que los microorganismos pueden ofrecer esta posibilidad en tecnologías basadas en el uso de estos en la remediación de la contaminación ambiental por petróleo y sus derivados.

## BÚSQUEDA DE NUEVAS PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA OXIDACIÓN DE MANGANESO (II)

Piazza A, Ciancio L, Gottig N, Ottado J

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Ocampo y Esmeralda, Rosario. Email: piazza@ibr-conicet.gov.ar

Las bacterias oxidantes de Manganeso (Mn) son filogenéticamente diversas y generalmente se encuentran en ambientes versátiles tales como el suelo, las aguas naturales y sedimentos. Hasta el momento se han identificado dos tipos de enzimas con capacidad de oxidar Mn (II): las enzimas llamadas Multicobre oxidasas (MCO), que son una familia de proteínas que unen cobre y que tienen la capacidad de oxidar distintos sustratos, y las Hemo-peroxidasas de unión a calcio. Sin embargo, no se han realizado estudios exhaustivos para identificar proteínas involucradas en los procesos de biooxidación, transporte y metabolismo de este metal. Asimismo, existen pocos estudios de los mecanismos moleculares utilizados en estos procesos por bacterias aisladas de zonas con alta concentración de Mn.

En estudios previos realizados en nuestro laboratorio se seleccionó y aisló una bacteria oxidante de Mn a partir de muestras ambientales, identificada como *Pseudomonas resinovorans*. El género *Pseudomonas* representa un sistema modelo, ideal para el estudio de la fisiología y mecanismo de oxidación de Mn (II), debido a la facilidad de crecimiento y manipulación en condiciones estándar de laboratorio. En este trabajo se propone identificar nuevas proteínas involucradas en la oxidación de Mn (II), a partir del estudio de dicho aislamiento bacteriano.

Para ello, se realizaron ensayos que permiten verificar actividad oxidante de Mn por PAGE nativo, “ensayo de oxidación in gel” in situ. Se sembró la fracción de proteínas solubles intracelulares y solubles secretadas de la cepa de interés en geles de poliacrilamida 8%. Luego de la electroforesis, los geles fueron incubados por 30 minutos en un buffer (pH 7.5; 0.5% Triton X-100, 10% [v/v] glicerol) y posteriormente en HEPES 10 mM (pH 7.5; 200  $\mu$ M MnCl<sub>2</sub> y CuSO<sub>4</sub>). El proceso de oxidación pudo seguirse visualmente mediante la aparición de bandas de óxidos de Mn de color marrón en el gel, las cuales aparecen usualmente luego de 24 h de incubación a 37°C. Posteriormente, para verificar que las bandas observadas efectivamente correspondían a óxidos de Mn, se incubó el gel con Leucoberbelina, un compuesto que en presencia de Mn (III o IV) se oxida, produciendo un color azul.

Se pudo detectar una banda de oxidación de Mn en la fracción de proteínas solubles secretadas de la bacteria analizada. El análisis posterior de la banda por nanoHPLC-ESI-Orbitrap permitirá la identificación de la proteína responsable de la oxidación.

Por otro lado, se puso a punto un ensayo colorimétrico con leucoberbelina, que permite cuantificar la capacidad de oxidación de Mn (II).

Este trabajo contribuirá al entendimiento del proceso de oxidación de Mn (II) en *Pseudomonas resinovorans* y además este estudio podrá extrapolarse a otro tipo de bacterias.

SELECCIÓN DE BACTERIAS RIZOSFERICAS Y DE SUELO, RESISTENTES A ELEVADAS CONCENTRACIONES DE As III Y CON POTENCIAL DE PROMOVER EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE VID; DEL DEPARTAMENTO DE JACHAL, PROVINCIA DE SAN JUAN, ARGENTINA

Dávila MV<sup>1</sup>, Funes Pinter MI<sup>2</sup>, Salomón MV<sup>2</sup>, Piccoli P<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudiante de Ing en Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, <sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica Vegetal, Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Almirante Brown 500, M5528AHB, Chacras de Coria, Argentina.  
Email: virlin\_04@hotmail.com

En San Juan se ha reportado un alto contenido del metaloide As III en aguas del Río Jáchal, superando los límites establecidos para consumo humano y riego agrícola. El uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) y resistentes As podría disminuir el efecto tóxico del metaloide en los cultivos en la zona. Con este trabajo se pretende seleccionar cepas tolerantes a As, y con capacidad PGPR. Las cepas aisladas de la rizósfera y raíces de vid y plantas nativas, del departamento de Jáchal, San Juan, fueron sometidas a concentraciones crecientes de As en medio Luria Broth (LB) sólido. Las concentraciones utilizadas fueron: 0, 5, 10 y, 20 mM de NaAsO<sub>2</sub>, pH 8 (valor de pH encontrado en suelos de Jáchal). Se sembraron por duplicado, 3 alícuotas de 5 µL (10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) de cultivo por placa y se seleccionaron aquellas cepas que lograron crecer en la mayor concentración, para evaluar su potencial PGPR. La producción de sideróforos se determinó en base a la técnica Chrome Azurol S-agar (CAS-AGAR), con modificaciones. En placas de Petri de 5 cm de diámetro, conteniendo una capa inferior de CAS y una superior con medio LB sólida, con adición de NaAsO<sub>2</sub> en concentraciones 0, 2, 5 y 10 mM (pH 8), se sembraron las diferentes cepas en el centro de las mismas. A los 5 días de iniciado el ensayo, se determinó el diámetro de colonia y halo formado. La capacidad de solubilizar fosfatos (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) se realizó de acuerdo a Nautiyal (1999), registrándose la presencia o no de la formación de halo en el medio específico. Por último, para determinar la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (FBN) se utilizó el medio NFB sólido a pH 8, con adición de NaAsO<sub>2</sub> en concentraciones crecientes. Como resultado se obtuvo que de las 39 cepas aisladas de rizósfera, 10 de ellas fueron capaces de crecer hasta una concentración de 20 mM de As, 10 de 10 mM de As, 5 hasta 5 mM de As y 14 no crecieron. En cuanto a las bacterias aisladas de raíces, de un total de 60, 9 crecieron hasta una concentración de 20 mM de As, 27 hasta 10 mM de As, 5 hasta 5 mM de As y 10 no crecieron. Para las pruebas posteriores se seleccionaron las que fueron tolerantes a 20 mM de As, tanto de raíz como de rizósfera (19 cepas). En cuanto a la producción de sideróforos, transcurridos los 5 días a partir de la siembra, de las 19 cepas seleccionadas, 8 presentaron un halo mayor a 1,5 cm de diámetro en todos los tratamientos con As III (4 de rizósfera y 4 de raíz). En estos casos, la producción de sideróforo no se vio afectada por el aumento de las concentraciones de As.

En lo que respecta a la solubilización de fosfatos, del total de cepas seleccionadas, 16 produjeron halo en al menos uno de los tratamientos y solo 2 lo formaron a 20 mM (1 de rizósfera y 1 de raíz).

Todas las cepas seleccionadas resultaron ser FBN en al menos uno de los tratamientos con As III y solo 12 crecieron a 20 mM (9 de rizósfera y 4 de raíz). Nuestros resultados indican que en el departamento de Jáchal existen cepas bacterianas autóctonas en suelo y en raíces de plantas de vid, resistentes a As III. Asimismo, ambos grupos de bacterias son capaces de producir sideróforos, FBN y solubilizar PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>, aún en presencia de altas concentraciones del metaloide, indicando su posible uso como herramienta biotecnológica en zonas contaminadas con elevadas concentraciones de As III.

## EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO POR PARTE DE MICROALGAS Y BACTERIAS INMOVILIZADAS

Zaballa IJ<sup>1</sup>, Regeiro DB<sup>1</sup>, Cuello C<sup>2</sup>, Gori JJ<sup>1</sup>, Vaccaro R<sup>3</sup>, Chamorro ER<sup>2</sup>, Ribaudó CM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Centro de Investigación en Química Orgánica Biológica, Universidad Tecnológica Nacional, Resistencia, Argentina, <sup>3</sup>Cátedra de Economía, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Email: zaballa@agro.uba.ar

El crecimiento de los cultivos vegetales se encuentra limitado por el abastecimiento de nutrientes minerales, dentro de los cuales se destacan el nitrógeno (N) y el fósforo (P), tanto por la magnitud de su demanda, como por su variabilidad en el suelo. En contraposición, ambos nutrientes se encuentran en niveles que frecuentemente resultan contaminantes tanto en aguas provenientes de residuos sólidos urbanos (RSU), como de efluentes de las distintas actividades ganaderas. Actualmente, el uso de microalgas se ofrece como una tecnología en continuo crecimiento para la biorremediación de aguas residuales, en especial para la remoción de N y P. En cuanto al uso de bacterias heterótrofas, el tratamiento biológico actualmente más difundido, es la biodigestión de efluentes, el cual provee una buena descomposición y remoción del carbono orgánico, pero tiene poca capacidad de remoción de los nutrientes inorgánicos como N y P. La combinación de bacterias con microalgas (autótrofas) puede superar esta limitación y asimilar eficientemente estos nutrientes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de remoción de N y P del agua, por parte de bacterias del género *Pseudomonas* (PAC) y de microalgas del género *Chlorella*, y su posterior utilización como fertilizante para los cultivos. Se llevó a cabo un ensayo de 168 h de duración, con un muestreo diario para determinar la evolución en la biorremediación de ambos nutrientes. Los microorganismos fueron inmovilizados dentro de una matriz tridimensional biodegradable, y colocados en un medio Bold's Basal (BB) modificado con N y P, para lograr dosis equivalentes a las presentes en aguas provenientes de RSU. Se utilizaron los siguientes tratamientos: PAC, *Chlorella*, y su combinación (PAC+*Chlorella*), mantenidos en cámara de cultivo con temperatura ( $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ ), fotoperiodo (16-8 h), y en aireación constante durante todo el ensayo. El experimento se realizó por duplicado. Se tomaron muestras diarias del sobrenadante del medio BB para la determinación colorimétrica del contenido de N-NO<sup>3</sup> y de P. Los microorganismos inmovilizados fueron recuperados a los 7 días, y utilizados para un bioensayo sobre plántulas de tomate de 30 días (n=10), cultivadas en bandejas alveoladas conteniendo arena/vermiculita (1:1). Se determinó en las mismas el efecto sobre la promoción del crecimiento vegetal. Los resultados obtenidos reflejaron una reducción en el contenido de P, que a las 48 h alcanzó valores del 64 al 75 % para los distintos tratamientos. Con respecto a la evolución del contenido de N-NO<sub>3</sub>, se obtuvo también a las 48 h de iniciado el ensayo una reducción del 90 %, para todos los tratamientos. El máximo de producción de biomasa algal, fue de entre 1,8 y 2 g/L, tanto en cantidad de células como en el peso seco, y ocurrió a los 5 días de iniciado el cultivo. En cuanto a la evaluación de la promoción del crecimiento en plántulas de tomate, se observó un incremento en el peso seco de raíces del 20 al 23 % para los tratamientos que incluyeron a la bacteria. El tratamiento del medio BB modificado con N y P, fue depurado en forma significativa a las 48 h de iniciado el ensayo. Estos resultados son coincidentes con los hallados por otros autores. La bacteria por sí misma, fue capaz de remover el exceso de N y P. La promoción del crecimiento en tomate, se observó solo en los tratamientos en que PAC estuvo presente, y podría deberse a un efecto hormonal ejercido por la bacteria, que se reflejó principalmente en un aumento de la parte radical.



ASPERGILLUS ORYZAE AISLADOS DE SUELOS AGRÍCOLAS, POTENCIALES  
DEGRADADORES DE CLORPIRIFÓS.

Barberis C<sup>1</sup>, Carranza C<sup>1</sup>, Aluffi M<sup>1</sup>, Magnoli C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Fco.- Qcas. y Naturales,  
Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36, Km 601, Córdoba, Argentina.

Email: ceciliacarranza90@gmail.com

En Argentina, ciertos insecticidas tales como clorpirifós, son de vital importancia durante el desarrollo de cultivos extensivos de soja, maíz y maní, incorporándose en forma continua junto a herbicidas en el medio ambiente del suelo durante el desarrollo de estos cultivos. El uso de insecticidas y herbicidas, a menudo tiene como consecuencia un impacto negativo sobre los ecosistemas naturales y pueden causar efectos antagónicos, aditivos o sinérgicos. La acción de los microorganismos del suelo sobre los pesticidas es el mecanismo de descomposición más importante. El objetivo de este estudio fue evaluar *in vitro* la capacidad de cepas de *Aspergillus oryzae*, aisladas de suelos agrícolas, de degradar en medio de cultivo sintético, clorpirifós, bajo diferentes condiciones ambientales. Dos cepas de *A. oryzae* (AM 1; AM 2) fueron usadas en esta experiencia, se prepararon fracciones de medio líquido Czapek-Dox modificado (CMD), acondicionado a 0,93, 0,95 y 0,98 de actividad de agua ( $a_w$ ). Los medios se inocularon y se incubaron en agitación constante a 25°C durante 7 días. Después de este período cada Erlenmeyer se suplementó, con el volumen necesario clorpirifós-formulación comercial para llegar a las concentraciones: 5, 10 y 20 mM. El período de incubación continuó hasta los 30 días. Alícuotas de 1 ml de medio inoculado se removieron a las 2 horas (control positivo), 1, 2, 5, 10, 15, 20 y 30 días de incubación. La concentración residual de clorpirifós se determinó por HPLC siguiendo la metodología propuesta por Panagiotis y col (2010). En general se observó que las dos cepas fueron capaces de degradar las diferentes concentraciones de clorpirifós, el porcentaje de degradación para ambas cepas y para todas las concentraciones fue significativamente mayor a 0,98 de  $a_w$  ( $p < 0,0001$ ). A los 30 días de incubación, la cepa AM 1 a 20 mM y 0,98 de  $a_w$ , fue capaz de degradar clorpirifós hasta en un 73% con respecto a los controles, ( $p < 0,0001$ ). Cuando se evaluó la capacidad de degradación de la cepa a 20 mM y 0,93 de  $a_w$ , los porcentajes disminuyeron significativamente, 31% ( $p < 0,0001$ ). La degradación de clorpirifós por la cepa AM 1 fue significativa desde las 24 horas a todas las concentraciones de pesticidas ensayadas y a 0,98 y 0,95 de  $a_w$ . Con la cepa *A. oryzae* AM 2 se determinó que a la mayor concentración de insecticida ensayada (20 mM) y a 0,98 de  $a_w$ , la concentración de clorpirifós disminuyó en un 53%. A 0,93 de  $a_w$  la degradación resultó significativa desde los 5 días de incubación, pero fue inferior que a las mayores  $a_w$  ensayadas (0,98 y 0,95), con porcentajes de reducción que no superaron el 30% en ninguno de los tratamientos analizados ( $p < 0,0001$ ). Las cepas no toxicogénicas de *Aspergillus oryzae* aisladas de suelos agrícolas degradaron bajo condiciones *in vitro* altas concentraciones de clorpirifós y podrían ser consideradas como potenciales biodegradadores de este insecticida.

DETERMINACIÓN DE CARACTERES FENOTÍPICOS Y GENOTÍPICOS DE AISLAMIENTOS NATIVOS DE *Bacillus thuringiensis* OBTENIDOS DE SUELOS DE DISTINTAS REGIONES ECOLÓGICAS

Sauka D<sup>1</sup>, Alfonso D<sup>1</sup>, Lopez N<sup>1</sup>, Pérez M<sup>1</sup>, Onco M<sup>1</sup>, Benintende G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Insumos Bacterianos, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires, ARGENTINA. Email:sauka.diego@inta.gob.ar

*Bacillus thuringiensis* es uno de los microorganismos más comúnmente empleados en el control microbiano de plagas. Esta bacteria se destaca por sintetizar inclusiones parasporales de naturaleza proteica durante la esporulación, que son responsables de actividad insecticida para distintos órdenes de insectos. En los últimos años, se han establecido colecciones de *B. thuringiensis* alrededor de todo el mundo con la finalidad de encontrar cepas productoras de factores de virulencia que posean mayor poder insecticida o tóxicas para insectos en los que no se haya reportado actividad. En nuestro laboratorio hemos constituido y tipificado, de acuerdo a nuestro conocimiento, la colección más amplia de *B. thuringiensis* nativos y exóticos de Argentina. En este trabajo se plantea disponer de aislamientos de *B. thuringiensis* caracterizados genotípicamente y fenotípicamente que enriquezcan dicha colección, fuente de recursos genéticos para el desarrollo de nuevas herramientas de protección biológica. Se analizaron 17 muestras de suelo de distintas regiones ecológicas de nuestro país. Se obtuvieron 16 aislamientos que fueron identificados por la presencia de cristales parasporales. Se visualizaron cristales amorfos y ovoides mediante microscopía de contraste de fases. Se analizó el contenido proteico de los mismos mediante electroforesis en geles de SDS-PAGE. La mayoría de los aislamientos presentaron una banda de *ca* 65 kDa, mientras que otros bandas de *ca* 100 kDa o mayores. Ninguno presentó un perfil idéntico al de las cepas de referencia. Luego se procedió a la detección del gen *thuE* asociado a la síntesis de  $\delta$ -exotoxina, y de genes que codifican proteínas tóxicas para insectos del orden Lepidoptera (*cry1*, *cry2* y *vip3A*), Coleoptera (*cry3*, *cry7*, *cry8*, *cry23* y *cry37*) y Diptera (*cry4*, *cry11*, *cyt1* y *cyt2*) mediante amplificación génica (PCR) y variantes. Se obtuvo ausencia de amplificaciones para los genes estudiados en los 16 aislamientos. Se confirmó la ausencia de producción de  $\delta$ -exotoxina empleando bioensayos con *Musca domestica*. Finalmente, se analizaron los 16 aislamientos mediante Rep-PCR y se establecieron relaciones de parentesco a través de los perfiles electroforéticos logrados. Se generaron 14 perfiles electroforéticos distintivos, a partir de los cuales se evidenciaron 19 bandas polimórficas comprendidas entre 0,5 y 3,0 kb. Ninguno de estos fue idéntico al de alguna de las cepas de referencia. Todo esto sugiere una variabilidad genética alta entre ellos. Se observó además que, por lo general, aislamientos obtenidos de suelos de distintos lugares no muestran tendencia a agruparse según su procedencia geográfica. En conclusión, los aislamientos obtenidos e incorporados a nuestra colección, resultaron ser muy diferentes unos de otros. Estos constituyen una fuente importante de diversidad genética y a pesar de no portar genes productores de los metabolitos tóxicos más difundidos responsables del biocontrol de insectos hospedantes conocidos, podrían ser portadores de genes codificadores de factores nuevos de toxicidad.

CARACTERIZACIÓN INICIAL DE AISLADOS DE Actinomycetes AISLADOS DE MUESTRAS DE SUELO DE MISIONES Y CORRIENTES Y SU POSIBLE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Kleinbielen TS<sup>1</sup>, Wolin IAV<sup>1</sup>, Valle Lisboa S<sup>1</sup>, Galeano DE<sup>1</sup>, Martina P<sup>1</sup>, Ferreras JA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología Subtropical (UNaM-CONICET). FCEQyN. UNaM. Jujuy 1745. Posadas. Misiones. Email: jferreras2002@yahoo.com.ar

Los microorganismos son una fuente extraordinaria de productos naturales siendo el origen de la mayoría de los antibióticos usados hoy día. Entre las bacterias se destaca el orden Actinomycetales entre los que poseen mayor capacidad de biosíntesis de estos metabolitos. Si bien numerosos estudios han explorado extensivamente distintos ecosistemas buscando cepas productoras de nuevos metabolitos, se estima que solo una pequeña proporción de la diversidad microbiológica es conocida. Además, a través de la genómica, se comprobó que las bacterias poseen una capacidad críptica de sintetizar metabolitos mucho mayor que la previamente conocida. Esto muestra el enorme potencial que la bioprospección y caracterización de nuevos aislados representa para el descubrimiento de nuevas drogas. La región del NEA, una de las regiones con mayor biodiversidad del país, ofrece una oportunidad única para este propósito. En este contexto, el objetivo general fue contribuir al conocimiento de la biodiversidad microbiana de la región, especialmente del orden Actinomycetales, y evaluar su capacidad para sintetizar compuestos con capacidad antimicrobiana. Aquí reportamos la caracterización inicial a nivel morfológico, genético y biosintético de 3 cepas aisladas de muestras de suelo de la región. El aislamiento se llevó a cabo a partir de muestras del perfil superior de suelos de las inmediaciones de la ciudad de Posadas, Misiones, y en la Isla Apipé Grande, Corrientes. Para el aislamiento primario se usó el medio ZSSE con cicloheximida y ácido nalidíxico. Este medio se suplementa, además, con un extracto preparado a partir del mismo suelo donde se tomaron las muestras. Las correspondientes secuencias casi completas del ADNr 16S se obtuvieron a partir de amplificaciones con *primers* universales 27F y 1492R. Las secuencias se compararon mediante BLAST con aquellas disponibles en las bases de datos públicas y usando la plataforma del *RDB*. Para la producción y análisis de metabolitos con actividad antimicrobiana, las cepas fueron crecidas en caldo tripteína-extracto de levadura, y el sobrenadante fue extraído con cloroformo. Los extractos concentrados se dispusieron en discos para antibiograma y se colocaron en placas de Petri con medio LB previamente inoculadas con una suspensión de bacterias (*Escherichia coli*, *Burkholderia sp.*; *Staphylococcus aureus* o *Mycobacterium smegmatis*, y hongos como *Fusarium sp.*). Del análisis morfológico y de la comparación de las secuencias del ADNr 16S, se concluyó que las 3 cepas pertenecen al género *Streptomyces*, sin poder asignarlas a una especie previamente descrita. Interesantemente, una cepa, IBS-A6, mostró dos variantes de este gen. Por último se determinó que los extractos clorofórmicos de las 3 cepas poseían actividad antimicrobiana a al menos a uno de los microorganismos analizados. Estos resultados en su conjunto demuestran el enorme potencial que este tipo de estudios representan para la región.

COLECCIÓN DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A VID Y VINO, HERRAMIENTA  
PARA LA CONSERVACIÓN Y VALORACIÓN DE RECURSOS GENÉTICOS  
MICROBIOLÓGICOS DE MENDOZA, ARGENTINA

Combina M<sup>1,2</sup>, Mercado L<sup>1</sup>, Gonzalez M<sup>1</sup>, Peticari A<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología - Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Mendoza, Argentina, <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina, <sup>3</sup>Laboratorio BPCV - IMYZA - INTA Castelar.  
E-mail: mercado.laura@inta.gob.ar

Argentina posee un vasto territorio con una biodiversidad muy amplia, valiosa y poco estudiada, lo cual constituye una ventaja por sobre otros países más explorados e industrializados, donde la biodiversidad propia ha sido gradualmente reemplazada por microorganismos de uso industrial, perdiendo recursos y variabilidad genética. Las colecciones de microorganismos resultan un recurso primordial para la preservación de la biodiversidad y para el desarrollo de tecnologías con aplicación en la producción agropecuaria, agroindustria y sanidad animal y vegetal. Con este objetivo en el año 2006 se inició un proyecto en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) que derivó en la creación de una red con capacidades para la colecta, conservación y valoración de microorganismos con el fin de facilitar su utilización en desarrollos tecnológicos para la producción y sanidad. La colección de microorganismos asociados a vid y vino, integrante de la Red de Recursos Genéticos Microbiológicos de INTA, creada y mantenida en la EEA Mendoza incluye aislamientos de levaduras relacionadas a la vid y el vino obtenidas en diferentes estudios realizados por el Laboratorio de Microbiología Enológica (EEAMendoza) desde el año 2001. La colección cuenta con los siguientes aislados: levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae* seleccionadas para la elaboración de vinos con diferentes estilos (vinos tintos jóvenes, vino Malbec, vinos de mesa blancos y tintos) identificadas molecularmente y caracterizadas en sus propiedades enológicas; levaduras de contaminación de jugos de uva concentrados y vinos identificadas molecularmente y parcialmente caracterizadas en sus actividades enzimáticas para producir etilfenoles en vinos; levaduras aisladas de uva con potencial para biocontrol de hongos ocratoxigenicos y otras podredumbres de uvas. Por otro lado, se cuenta con una colección de levaduras de la especie *S. cerevisiae* integrada por dos grandes bloques de cepas, el bloque “biodiversidad”, incluye las poblaciones de *S. cerevisiae* de diferentes viñedos de la región Zona Alta del Rio Mendoza (ZARM, principal región productora de vinos Malbec), con aproximadamente 1000 aislados. Los mismos han sido tipificados mediante dos marcadores moleculares intraespecíficos y parcialmente caracterizados fenotípicamente en sus propiedades enológicas y resistencia a diferentes condiciones de estrés. Por otro lado, el bloque “nichos del viñedo” incluye aproximadamente 500 aislados del viñedo (suelo, corteza, yemas, flores, bayas) recolectadas a lo largo del ciclo biológico de la vid en dos viñedos de la ZARM. Este bloque ha sido parcialmente caracterizado a nivel molecular. La colección aun no se encuentra disponible para depósito e intercambio de cepas debido a una limitación en la dedicación de recursos humanos para su mantenimiento. Pero, la protocolización de los procedimientos y la disponibilidad de técnicas adecuadas han permitido la colaboración con otros actores del medio vitícola-enológico, contribuyendo en la caracterización molecular de colección de levaduras enológicas de la UNCuyo. Se procura de esta manera preservar la biodiversidad microbiológica, incrementar el potencial existente y asegurar la disponibilidad de los recursos con el fin de responder a las demandas tecnológicas actuales y futuras.

EL ECOSISTEMA DEL VIÑEDO, RESERVORIO DE RECURSOS GENÉTICOS  
MICROBIOLÓGICOS EXPUESTO A LOS EFECTOS DE LAS PRÁCTICAS VITÍCOLAS Y  
ENOLÓGICAS

Mercado L<sup>1</sup>, Gonzalez M<sup>1</sup>, Diaz Quiros C<sup>1</sup>, Combina M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria- Estación Experimental Agropecuaria Mendoza - Laboratorio de Microbiología, Mendoza, Argentina, <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina. E-mail: mercado.laura@inta.gob.ar

Las levaduras forman parte de las comunidades microbianas del viñedo, su importancia reside en el rol que desempeñan en la obtención del vino durante la fermentación alcohólica y su contribución a las características del producto. La producción de vid y la elaboración de vino son dos actividades de amplia tradición y gran impacto económico en Mendoza, potenciar su desarrollo resulta fundamental. Algunas estrategias propuestas para ello son el agregado de valor y la diversificación, perspectivas que pueden abordarse desde una estrategia microbiológica a partir del conocimiento de los fenómenos que determinan la presencia de distintas cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, la levadura enológica más importante, en los viñedos de una región vitícola. En el presente trabajo se estudiaron las poblaciones de levaduras *S. cerevisiae* en tres viñedos de la región vitícola Zona Alta del Río Mendoza. Con el objetivo de evaluar el efecto que tienen algunas prácticas de manejo, como el riego con efluentes, sobre estas poblaciones se evaluaron dos parcelas ubicadas en el mismo predio, una regada de manera tradicional (viñ 1T), y la otra irrigada con efluentes de bodega pre-tratados (viñ 2E). Con el objetivo de conocer las poblaciones de *S. cerevisiae* presentes en diferentes nichos del viñedo (planta y suelo) y la persistencia de estas poblaciones en el viñedo a lo largo de un año, se evaluó un tercer viñedo en el cual se realizó un muestreo en cuatro etapas del ciclo vitícola (viñ 3). Realizando un muestreo sistemático se seleccionaron 10 sectores de cada parcela y se obtuvieron muestras de uvas y suelo en el momento de cosecha, y de las partes disponibles de la planta (corteza, yemas, flores) en las otras etapas. Se aislaron las levaduras *S. cerevisiae* y se diferenciaron intra-específicamente por sus patrones PCR interdelta. Los resultados obtenidos mostraron gran diversidad de cepas de *S. cerevisiae* en el viñedo irrigado con efluentes, tanto en muestras de uvas como el suelo (viñ 2E). Solo en el suelo de esta parcela (viñ 2E) se aislaron levaduras *S. cerevisiae* en cosecha. El agua residual de bodega utilizada para complementar el riego del viñedo además de aportar sustentabilidad a la industria vitivinícola, podría favorecer el aumento de biodiversidad de levaduras en viñedo. Por otro lado, se observó una variación en las poblaciones *S. cerevisiae* en diferentes etapas del ciclo vitícola, siendo diferente en cada caso el nicho (suelo, yema, corteza, flor, uva) a partir del cual pudieron ser aisladas estas levaduras. Por ejemplo, levaduras de la especie *S. cerevisiae* pudieron ser aisladas a partir de muestras de suelo solo en la etapa de poscosecha (viñ 3), sólo en una parte de la parcela y con baja diversidad molecular. De acuerdo a lo observado, el viñedo constituye un dinámico reservorio genético de levaduras. En todos los casos se detectaron levaduras de origen comercial en los viñedos, cuyo origen necesariamente es la bodega, indicando una diseminación o flujo de levaduras desde los establecimientos, mediante mecanismos que deberán ser estudiados. Este estudio contribuye a un mejor conocimiento de la biodiversidad de las levaduras nativas de viñedos argentinos y a la preservación de los recursos genéticos de interés regional, permitiendo a futuro el desarrollo de inóculos nativos que contribuyan a la mejora de la calidad de los vinos argentinos y la mejor expresión del *terroir* en vinos de Mendoza.

SELECCIÓN DE UNA CEPA NATIVA DE *Saccharomyces cerevisiae* PARA LA PRODUCCIÓN NACIONAL DE SIDRA Y ESTUDIO DE SU CAPACIDAD PARA DISMINUIR LA CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINAS

Pattarino L<sup>1</sup>, Pérez C<sup>1</sup>, Garmendia G<sup>1</sup>, Vero S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología. Departamento de Biociencias. Facultad de Química. Universidad de la República. Uruguay. Email: lpattarino@fq.edu.uy

La producción de sidra es una actividad de creciente importancia en Uruguay. En el año 2011, la cosecha de manzanas alcanzó aproximadamente 70000 toneladas, de las cuales un 12% fue destinado a la producción de sidra. En general, las frutas utilizadas en la elaboración de sidra no son sometidas a un proceso de selección. Algunos productores realizan la fermentación espontánea de la fruta, mientras que otros inoculan levaduras comerciales importadas las cuales son específicas para la producción de vino, no habiendo en nuestro medio cepas seleccionadas para la producción de sidra.

El objetivo del trabajo fue seleccionar una cepa de levadura nativa específica para la producción de sidra y estudiar su capacidad de degradar alternariol y patulina, micotoxinas producidas por *Alternaria alternata* y *Penicillium expansum* respectivamente, principales patógenos poscosecha de manzanas.

La selección se realizó a partir de 13 cepas aisladas en trabajos previos, las cuales fueron identificadas fenotípica y genotípicamente como *Saccharomyces cerevisiae*. Dichas cepas fueron caracterizadas y comparadas con una cepa comercial, de acuerdo a su resistencia a etanol y a metabisulfito de sodio, su capacidad fermentativa, producción de H<sub>2</sub>S, formación de espuma y floculación.

A partir de los resultados obtenidos se preseleccionaron dos cepas (F y M), capaces de crecer en presencia de 9% de etanol, cuya fase latencia no aumentó en presencia de metabisulfito de sodio, con capacidad de flocular y de producir entre 9 y 10 % de etanol luego de la fermentación sin generación de H<sub>2</sub>S ni espuma. Las cepas seleccionadas pudieron ser diferenciadas molecularmente por análisis del gen mitocondrial *cox1*. Con ambas cepas se realizó una microfermentación competitiva, a partir de la cual se constató que la cepa M era capaz de imponerse a la otra. Posteriormente, se verificó la capacidad de la cepa seleccionada de disminuir la concentración de alternariol y patulina en el jugo fermentado.

Este trabajo permitió seleccionar una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae* con características tecnológicas adecuadas para la producción de sidra en nuestro país y superiores a las de la cepa comercial de mayor uso en nuestro país.

LARVAS DE *Cydia pomonella* COMO FUENTE DE AISLAMIENTO DE *Bacillus thuringiensis*

Onco M<sup>1,2</sup>, Sauka D<sup>1,2</sup>, Pérez M<sup>1,2</sup>, Benintende G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Insumos Bacterianos, Instituto de Microbiología Agrícola (IMYZA). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires. ARGENTINA, <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Email: onco.mines@inta.gob.ar

*Bacillus thuringiensis* es el microorganismo entomopatógeno más estudiado y utilizado como agente de control microbiano de insectos plaga. Esta bacteria se caracteriza por sintetizar factores de virulencia que se conglomeran en inclusiones cristalinas parasporales (proteínas Cry) durante la esporulación. Además, puede secretar metabolitos “insecticidas” al medio durante su fase vegetativa que son activos *per se* o que pueden contribuir sinérgicamente a la toxicidad global de la cepa. Se ha aislado a partir de suelos, filoplano de plantas, residuos de la molienda de granos y larvas de insectos enfermos o muertos alrededor de todo el mundo. Una estrategia común de aislamiento incluye muestrear zonas donde conviven los insectos y el cultivo afectado con el objeto de obtener *B. thuringiensis* tóxicos para la plaga. En el presente estudio se describe el aislamiento y caracterización de *B. thuringiensis*, obtenidos de larvas vivas y sanas de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). Se analizaron 18 larvas provenientes de distintas fincas libres de la aplicación de *B. thuringiensis* radicadas en Tunuyán, Mendoza. A partir de tres de ellas, se obtuvieron 8 aislamientos que fueron identificados por la presencia de cristales parasporales y análisis de un fragmento del gen 16S rRNA. Se individualizaron cristales ovoides mediante microscopía de contraste de fases en todos ellos. Su análisis mediante SDS-PAGE brindó la existencia de una banda principal de ca. 130 kDa en la mayoría de los mismos, mientras que en otros de ca. 180 kDa. Posteriormente se procedió a la detección de genes que codifican proteínas tóxicas para lepidópteros, coleópteros y dípteros, y de genes asociados a la síntesis de - exotoxina y zwittermicina, mediante amplificación génica (PCR). Se obtuvo ausencia de amplificaciones para los genes estudiados en todos los aislamientos. Paralelamente se analizaron mediante Rep-PCR. Esto permitió que los aislamientos se agruparan dentro de uno de dos perfiles electroforéticos distintivos. Se evidenciaron en ellos 19 bandas polimórficas. El perfil de uno de estos grupos se asemejó al de la cepa coleopterocida DSM2803 utilizada como referencia. Finalmente se evaluó la toxicidad de los aislamientos para larvas neonatas de *C. pomonella*. Ninguno resultó tóxico. Para concluir, es factible aislar *B. thuringiensis* de larvas vivas y sanas de *C. pomonella* que, como se presumía, no fueron tóxicas para este insecto. Se podría hipotetizar que estas se encontraban en las larvas de donde se aislaron como saprófitos y llegaron a ellas por estar en contacto con esporas libres de *B. thuringiensis* o contenidas en su alimento habitual. Los resultados obtenidos sugieren en general una gran variabilidad entre los dos grupos de aislamientos obtenidos. Algunos podrían ser productores de proteínas insecticidas diferentes a las conocidas y/o con un espectro de acción extendido a otros órdenes de insectos distintos a los estudiados, o ser simplemente no tóxicas.

EFFECTOS DE LA INOCULACIÓN DE TRIGO CON *Azospirillum brasilense* Az39 Y *Pseudomonas fluorescens* ZME4 ENTRAMPADAS EN ESFERAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

Pérez JJ<sup>1</sup>, Maroniche GA<sup>2</sup>, Pereyra MA<sup>2</sup>, François NJ<sup>1</sup>, Creus CM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Aplicaciones de Materiales Biocompatibles, ITPN (UBA – CONICET), Facultad de Ingeniería. UBA, <sup>2</sup>Laboratorio de Bioquímica Vegetal y Microbiana, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce. Email: jj.perez@conicet.gov.ar

Los inoculantes en formulaciones líquidas presentan alto riesgo de contaminación y pueden resultar en una baja supervivencia de las bacterias en el suelo. En los últimos años se han generado formulaciones de inoculantes secos encapsulando microorganismos en diversos polímeros que permiten atrapamiento de las células vivas, su protección contra varios tipos de estreses ambientales y su liberación progresiva en el suelo. El objetivo de este estudio fue la evaluación de macroesferas de quitosano y almidón como vehículo de *A. brasilense* AZ39 (Az) y *P. fluorescens* ZME4 (Ps) para promover el crecimiento temprano de plántulas de trigo, comparado con la inoculación directa de las bacterias en medio líquido.

Las macroesferas de quitosano y almidón se prepararon por el método de coacervación simple y entrecruzamiento con tripolifosfato de sodio, conteniendo  $10^8$  y  $10^9$  UFC.g<sup>-1</sup> de Az o de Ps, respectivamente. Los inóculos líquidos se obtuvieron en medio LB crecidos hasta fase exponencial tardía, para ambos microorganismos. Las semillas de trigo cv. BSY300 se hicieron germinar en cámara húmeda por 96 hs a 25°C. Luego se sembraron en macetas con una mezcla esterilizada de vermiculita:turba (1:1), y la inoculación se realizó en todos los casos a razón de  $1 \times 10^7$  UFC.semilla<sup>-1</sup>. Luego de 15 días en cámara de crecimiento las plántulas fueron retiradas del sustrato y se evaluó la colonización bacteriana de las raíces mediante recuento de UFC.g<sup>-1</sup> PF de raíz en agar LB y RC. Se estimó el efecto promotor del crecimiento mediante la cuantificación de la longitud de las porciones aérea y radical, y la partición como longitud aérea/longitud de raíces. No hubo diferencias significativas entre ambos métodos de inoculación en el caso de Az encontrándose valores medios de  $4,7 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> PF de raíz. En el caso de la inoculación con Ps la colonización de la raíz fue significativamente mayor cuando se inoculó con macroesferas respecto al inóculo líquido, alcanzando en raíces valores promedio de  $5,5 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> PF. Estos resultados sugieren que la liberación gradual y más prolongada de las bacterias en el sustrato por las macroesferas favorece la colonización de las raíces, lo que podría deberse a la presencia constante del inóculo o a que las bacterias tienen acceso a una mayor cantidad de puntos de anclaje y colonización en el tiempo. Con respecto al crecimiento de las plántulas, la inoculación con Ps encapsulada en macroesferas produjo un aumento significativo en la altura de las plantas, lo que no se observó con el inoculante líquido. La partición a raíces fue significativamente menor en el caso de la inoculación con Ps en soporte líquido.

En conclusión, las macroesferas de quitosano-almidón demostraron ser un soporte adecuado para el transporte de inoculantes bacterianos, permitiendo la colonización de las raíces con Az o Ps y mostrando en este último caso, promoción del crecimiento de trigo.



PRODUCCIÓN DE PENICILINA ACILASAS DE AISLAMIENTOS DEL GÉNERO *Penicillium* OBTENIDOS DE SUELOS DE LA ARGENTINA

Silvestro LB<sup>1</sup>, Murray AP<sup>2</sup>, Stenglein SA<sup>1,3,4</sup>, Arroyo M<sup>5</sup>, Acebal C<sup>5</sup>, Velasco-Bucheli R<sup>5</sup>, De la Mata F<sup>5</sup>, Moreno MV<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Funcional y Biotecnología (BIOLAB-INBIOTEC-CICBA), Facultad de Agronomía de Azul, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Azul, Provincia de Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>INQUISUR-CONICET, Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), <sup>4</sup>Microbiología, Facultad de Agronomía, UNCPBA, <sup>5</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. Email: stenglein@faa.unicen.edu.ar

*Penicillium* sp. es un género cosmopolita cuyas especies son capaces de desarrollarse sobre diversos tipos de sustratos. Desde el punto de vista biotecnológico son de interés, ya que son capaces de sintetizar antibióticos o precursores de los mismos y una amplia gama de enzimas hidrolíticas, tales como proteasas, lipasas, celulasas y acilasas. Las penicilina acilasas están involucradas en la producción industrial de antibióticos  $\beta$ -lactámicos (penicilinas y cefalosporinas) semisintéticos, a partir de penicilinas y cefalosporinas naturales, por tal razón resulta relevante el hallazgo de nuevas enzimas con mayor poder catalítico. El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de enzimas penicilina acilasas en aislamientos del género *Penicillium* obtenidos de suelos de la Argentina. Para ello, se partió de una colección de 50 aislamientos; las especies empleadas fueron *Penicillium aethiopicum* (3), *P. griseofulvum* (5), *P. kananaskense* (1), *P. lilacinum* (4), *P. paraherquei* (3), *P. pinophilum* (10), *P. meridianum* (4), *P. purpurogenum* (18) y *P. sayulitensis* (2). Cada aislamiento se creció en placas de Petri con agar extracto de malta. Los cultivos fueron incubados durante 2 semanas a  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  con alternancia de luz/oscuridad de 12 h. Para la obtención de la suspensión de esporas, a cada placa de Petri se le adicionaron 15 mL de solución estéril de Tween 80<sup>®</sup>, se raspó el micelio con bisturí y se filtró a través de una gasa estéril. Posteriormente, en Erlenmeyers de 250 mL fueron inoculados por duplicado  $4 \times 10^4$  esporas en 50 mL de medio líquido, y se incubaron durante 3 días en agitador orbital a  $28^\circ\text{C}$  y 180 rpm. El sobrenadante enzimático obtenido fue empleado para el ensayo espectrofotométrico de actividad penicilina acilasa, empleando como sustratos penicilina V y penicilina G y la posterior cuantificación del 6-APA (núcleo  $\beta$ -lactámico liberado) mediante *p*-dimetilaminobenzaldehído. Del total de los aislamientos evaluados se observó que las especies que reflejaron actividad penicilina V acilasa fueron: *P. aethiopicum* (2), *P. griseofulvum* (2), *P. meridianum* (1), *P. paraherquei* (2), *P. pinophilum* (1) y *P. purpurogenum* (8). Las especies que presentan actividad penicilina G acilasa fueron: *P. aethiopicum* (1), *P. griseofulvum* (1), *P. meridianum* (3), *P. pinophilum* (2) y *P. purpurogenum* (5). Los mayores valores penicilina V acilasa lo mostraron *P. paraherquei* y *P. purpurogenum*, y en el caso de penicilina G acilasa fueron *P. aethiopicum*, *P. griseofulvum* y *P. meridianum*. Dichas especies poseen buenas perspectivas para ser empleadas en la hidrólisis de penicilinas, así como pueden ser eventualmente empleadas en la producción de antibióticos  $\beta$ -lactámicos.

## BIOPROSPECCIÓN DIRIGIDA COMO ESTRATEGIA PARA LA OBTENCIÓN DE CULTIVOS MIXTOS FIJADORES DE NITRÓGENO PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS DEGRADADOS

Sanabria J<sup>1</sup>, Rodriguez M<sup>2</sup>, Daza M<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Profesora Laboratorio de Microbiología y biotecnología-Grupo GAOX Universidad del Valle. Ponente. Ponente <sup>2</sup>Estudiante de Doctorado laboratorio de Microbiología y Biotecnología-Grupo GAOX, Universidad del Valle. <sup>3</sup>Profesora grupo REGAR. Universidad del Valle.  
Email: janeth.sanabria@correounivalle.edu.co

La fertilización química de suelos ha sido determinante para la producción a gran escala de alimentos. Los elevados consumos energéticos para su producción, los altos precios de los fertilizantes, la degradación de los suelos y la contaminación que genera su uso, ha renovado el interés hacia el estudio de procesos biológicos de fijación. El reto para mejorar la fijación de Nitrógeno implica la adaptación de los microorganismos al estrés dado por altos niveles de salinidad, preexistencia de amonio, acidez, modificación de la diversidad nativa suelos degradados etc. Una de las estrategias para obtención de inoculantes ha sido la selección y cultivo de microorganismos puros. Sin embargo los microorganismos provenientes de cultivos puros pueden ser inestables en estas condiciones inhibidos o desplazados por otros microorganismos competidores. Los cultivos mixtos han sido menos estudiados a pesar de que existen evidencias que estos podrían adaptarse mejor a las condiciones de stress ambiental en suelos degradados.

En este trabajo implementamos una estrategia alternativa a la selección de cultivos puros. Para obtener los cultivos mixtos, se extrajeron consorcios microbianos de diferentes lodos de sistemas de tratamiento de aguas residuales STAR (humedal, laguna facultativa, biodiscos y lodos activados). Los consorcios fueron enriquecidos en un medio libre de nitrógeno en secuencias de alimentación de 24h, a una temperatura promedio de 30°C y agitación de 200 rpm. Al final de cada ciclo de agitación (24h), la aireación y agitación fueron suspendidas, se dejó sedimentar durante 30 minutos, se sacó el sobrenadante y volvió a alimentar. Este ciclo se repitió ininterrumpidamente durante 70 días. El pH, amonio, nitritos y nitratos en el sobrenadante fueron monitoreados con el fin de observar el balance de fijación de nitrógeno del consorcio. Se hizo recuento en placa de UFC mL<sup>-1</sup> en medio mineral libre de nitrógeno para determinar la densidad de FN al final del proceso. Para los estudios de diversidad se llevó a cabo extracción de ADN, PCR y secuenciación de última generación Illumina.

Los resultados demuestran la presencia de microorganismos fijadores de nitrógeno en todos los lodos de STAR muestreados. Los estudios de diversidad destacaron la presencia con mayor abundancia de las familias Flavobacteriaceae, Clostridiaceae, Cryomorphaceae, Beutenbergiaceae, los cuales coexisten en los consorcios. La mayor diversidad se observó en los humedales artificiales.

Por primera vez se demostró que la estrategia de enriquecimiento en reactores permitió obtener un cultivo mixto fijador de nitrógeno, con una producción en el sobrenadante de hasta 29.4 mg/L y de 165.6 mg/L de nitrógeno total. Los cultivos mixtos son capaces de adaptarse al suelo y mejorar las condiciones de crecimiento de *Coriandrum sativum*. Esto abre una nueva posibilidad de producción de amonio en reactores discontinuos secuenciales y una nueva forma de abordar la problemática de recuperación de suelos.

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A RADIACIÓN UV-B DE *Acinetobacter* Ver3, UNA PROTEOBACTERIA EXTREMÓFILA AISLADA DE LAGUNAS ANDINAS

Portero LR<sup>1</sup>, Zannier F<sup>1</sup>, Kurth D, Gorriti M, Ordoñez O<sup>1</sup>, Belfiore C, Farías ME<sup>1</sup>, Albarracín V<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas de Lagunas Andinas (LIMLA), Planta Piloto de Procesos Industriales y Microbiológicos (PROIMI), CCT, CONICET. Tucumán, Argentina,

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán, Argentina. E-mail: virginia@proimi.org.ar

Las Lagunas de altura Puno Andinas (LAPAs) de los Andes sudamericanos están expuestas a elevada radiación UV y alto contenido de elementos tóxicos entre múltiples factores extremos. Una amplia variedad de microorganismos llamados "extremófilos" habitan estos ambientes. Uno de ellos, *Acinetobacter* sp. Ver3 fue elegido como microorganismo modelo para el estudio de sistemas de resistencia a UV en poli-extremófilos de las LAPAs. El objetivo de este trabajo es integrar diversos enfoques experimentales para caracterizar los mecanismos de resistencia a radiación UV de Ver3, aquí denominados en conjunto como "UV-resistoma".

Como control se usaron cepas de colección DSMZ. Las cepas fueron expuestas a diferentes dosis de UV-B. Los perfiles de supervivencia, proteómica y de desarrollo de biopelículas se registraron antes y después de la exposición con UV (1-40 kJ/m<sup>2</sup>) y luego de incubar las células tratadas bajo oscuridad (DR) o en luz (PR). Se analizaron los datos genómicos con la plataforma RAST, identificando componentes relacionados con la resistencia a UV.

Nuestros resultados muestran una mayor resistencia a la radiación UV-B de Ver3 comparada con las cepas de control. En todos los casos ensayados, la recuperación fue más eficiente después de PR. Los datos del genoma apoyaron las observaciones fenomenológicas, destacándose una serie de genes únicos que podrían explicar la alta resistencia al UV, tales como un novel criptocromo. En el perfil proteómico de células bajo radiación a UV, se identificaron proteínas que estarían reguladas por el efecto de la UV, tales como la catalasa citoplasmática específica, un regulador putativo de quórum sensing involucrado en el desarrollo del biofilm y proteínas relacionadas con varias vías de generación de energía.

Así, se definió un "UV-resistoma" presente en Ver3 cuyos rasgos fundamentales están relacionados con la presencia de genes de reparación del daño en el ADN y con aquellos que confieren una mayor capacidad de tolerancia de las especies moleculares reactivas responsables de daño oxidativo. La regulación de estos procesos debe ser un proceso muy importante para el alto fitness de Ver3 ante UV ya que se encontraron 23 reguladores únicos en el genoma de esta cepa en comparación con cepas cercanas filogenéticamente.

## LIMITACIONES EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS PARA RIEGO CON AZUL DE METILENO Y LUZ VISIBLE

Forte Giacobone AF<sup>1,2</sup>, Ruiz Gale MF<sup>1</sup>, Hogert EN<sup>1</sup>, Oppezzo OJ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Comisión Nacional de Energía Atómica,<sup>2</sup>Universidad Nacional de 3 de Febrero.

Email: forte@cnea.gov.ar

A nivel experimental, se ha ensayado tratar efluentes cloacales tanto con radiación ultravioleta como con azul de metileno (AM) y luz visible para obtener aguas aptas para riego. Estudios previos sugieren que la aparición de bacterias persistentes puede limitar la eficacia de los procedimientos de desinfección que utilizan radiación ultravioleta. El objetivo del presente trabajo fue establecer si este problema puede ocurrir también durante el tratamiento del agua con AM y luz visible. Para detectar la eventual presencia de bacterias persistentes, se obtuvieron y analizaron curvas de supervivencia de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, crecida hasta fase estacionaria en caldo nutritivo. Las bacterias, suspendidas en buffer de fosfatos, se expusieron a la radiación emitida por diodos emisores de luz (637 nm) o dispositivos LASER de Helio Neón (633 nm) en presencia de concentraciones micromolares de AM, y se determinó el número de microorganismos viables al principio de las irradiaciones y en diferentes momentos a lo largo de las mismas. El efecto letal del tratamiento aumentó con la concentración de AM en el intervalo 1,5 á 6  $\mu\text{M}$ , resultando independiente de este parámetro a valores mayores (15-30  $\mu\text{M}$ ). La velocidad del proceso fue aproximadamente proporcional a la intensidad de la radiación impartida. La pendiente de las curvas de supervivencia se redujo en todas las condiciones ensayadas cuando la fracción sobreviviente disminuyó hasta alrededor de  $10^{-5}$ . Ni el aumento en la concentración inicial de AM, ni la adición de AM al medio durante la irradiación modificaron el cambio de pendiente, descartándose el agotamiento del fotosensibilizador como posible causa de este fenómeno. Para altas dosis de radiación el recuento de viables presentó sólo pequeñas variaciones. Los resultados indican la existencia dentro de la población bacteriana de una fracción minoritaria con mayor capacidad para tolerar el tratamiento, y son compatibles con la presencia de bacterias persistentes. Este fenómeno constituye un desafío en el diseño de protocolos destinados a mejorar la calidad microbiológica de aguas, ya que no parece evitarse incrementando la concentración de fotosensibilizador ni prolongando la exposición a la radiación, dentro del rango considerado en este trabajo. Por otra parte, existe un valor crítico en la concentración inicial de AM por debajo del cual se reduce notablemente la eficacia del tratamiento sobre la fracción mayoritaria de la población, no encontrándose mejoras significativas por encima del mismo.

INTERACCIÓN ESTABLECIDA ENTRE DIFERENTES CULTIVOS DE GRANO Y LAS  
COMUNIDADES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA

Di Salvo LP<sup>1</sup>, Carlino ME<sup>1</sup>, Cellucci GC<sup>1</sup>, Perdoménico P<sup>1</sup>, García de Salamone IE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía, UBA. Email: disalvol@agro.uba.ar

Las comunidades microbianas son consideradas indicadores de la calidad del suelo. Estos bioindicadores pueden ser utilizados para evaluar los efectos de las prácticas agrícolas sobre el agroecosistema. Entre los métodos disponibles para el análisis de la diversidad funcional microbiana se encuentra el estudio de los perfiles de utilización de sustratos carbonados (CLPP según sus siglas en inglés). Esta metodología ha sido ampliamente utilizada para evaluar del efecto de diferentes manejos agrícolas sobre las comunidades microbianas. Si bien las diferentes estrategias de manejo aplicadas en la producción agrícola pueden modificar la biodiversidad microbiana, los efectos de la aplicación de fertilizantes e inoculantes sobre las comunidades microbianas nativas en condiciones de campo no son completamente conocidos. Debido a ello, el objetivo de este trabajo fue analizar el efecto conjunto de las fertilizaciones químicas y la inoculación con ciertas cepas de *Azospirillum brasilense* sobre la ecología microbiana rizosférica de los cultivos de trigo y maíz, en condiciones de campo. Para ello, se realizaron ensayos independientes, dos de trigo y tres de maíz, en diferentes localidades y campañas agrícolas, y con diferentes combinaciones de dosis de fertilización y tratamientos de inoculación. Los niveles de respuesta fueron mostrados previamente. Sobre muestras de la rizósfera tomadas en estado vegetativo y reproductivo de cada cultivo, se realizó la caracterización y cuantificación de la diversidad funcional bacteriana mediante la obtención de los CLPP de las comunidades presentes según la metodología descrita previamente por estos autores. El análisis discriminante realizado con los datos de todos los ensayos en conjunto mostró diferencias en la fisiología de las comunidades microbianas rizosféricas debidas, fundamentalmente, a las características de cada uno de los ensayos y al estado ontogénico, y no tanto a los tratamientos de inoculación y de fertilización aplicados a los cultivos. Las mencionadas diferencias se observaron únicamente en los cultivos de trigo. Se debe destacar que la variabilidad genotípica del cultivo de trigo es mayor que la del maíz, dado que se utilizan variedades comerciales e híbridos, respectivamente. Esto podría explicar en parte que no se observen diferencias entre los diferentes ensayos de maíz pero sí entre los distintos ensayos de trigo analizados. Los resultados de este trabajo muestran que la fertilización química y la inoculación con *A. brasilense*, no generaron modificaciones de los CLPP de las comunidades microbianas rizosféricas más significativos que los generados por la interacción planta-ambiente, o aquellos generados por la fisiología del cultivo en sí misma.

## COMUNIDADES MICROBIANAS TOLERANTES A ARSÉNICO

Lima MA<sup>1</sup>, Urbieta MS<sup>1</sup>, Donati ER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (CCT La Plata- CONICET, UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata, Argentina. Email: malejandralima@gmail.com

El arsénico (As) es un agente tóxico para el hombre, animales y plantas. Su amplia distribución en el ambiente es natural (por actividades volcánicas y la lixiviación de suelos y rocas con altos contenidos de As) y también de origen antropogénico (minería, fundición de metales, pesticidas). Debido a estas causas, se han detectado altas concentraciones de As en aguas subterráneas tanto en nuestro país como en otros lugares del mundo. La Organización Mundial de la Salud califica al As como una de las 10 sustancias químicas más preocupantes para la salud pública (el límite recomendado de concentración en agua potable es de 10 ug/L) por lo que resulta imperativo su remoción. Los métodos biológicos para el tratamiento de contaminaciones con As resultan ambiental y económicamente más convenientes. Dichos métodos se basan fundamentalmente en los mecanismos de resistencia de los propios microorganismos y, entre otros, la capacidad de oxidar  $As^{+3}$  a  $As^{+5}$  es la más relevante ya que la segunda especie es menos tóxica y más fácil de inmovilizar que la primera. Por otro lado, en procesos productivos como la biominería, los microorganismos catalizan la oxidación de sulfuros (y arseno-sulfuros) en minerales con alta concentración de arsenopirita o de enargita, liberando los metales de interés; para lo cual deben ser resistentes a concentraciones elevadas de As. El objetivo de este trabajo es la búsqueda de comunidades microbianas autótrofas y anaeróbicas resistentes o tolerantes a As, que pudieran ser utilizadas en procesos de biorremediación de esa especie y/o en procesos biomineros en ambientes con altas concentraciones de As. Para ello se recolectaron muestras líquidas y sólidas en la zona geotermal de Caviahue-Copahue, que presenta condiciones de acidez elevada y concentraciones importantes de hierro y azufre. Las muestras fueron enriquecidas en dos medios y condiciones diferentes: medio mineral MAC (pH 3) suplementado con azufre en frascos agitados a 30°C para favorecer el crecimiento de microorganismos biolixivantes y medio Posgate B (pH 6) incubado bajo condiciones anaeróbicas a 30°C para seleccionar bacterias sulfato reductoras. Ambas comunidades obtenidas fueron suplementadas con cantidades crecientes de  $NaAsO_2$  y  $Na_2HAsO_4 \cdot 7 H_2O$ . Se encontraron crecimientos positivos en aerobiosis, hasta concentraciones de 1,6 g/L de  $As^{+3}$  y mayores a 46,8 g/L de  $As^{+5}$ ; las comunidades anaeróbicas crecieron hasta concentraciones similares de  $As^{+3}$  y algo menores de  $As^{+5}$  (31,2 g/L). La hibridación positiva de los cultivos aeróbicos con una sonda específica del género *Acidithiobacillus*, indicó que una parte de la comunidad pertenecía a este género. Luego se comparó por DGGE las comunidades originales obtenidas en ambos enriquecimientos con las comunidades tolerantes a cada especie de As. En futuros ensayos, se analizarán los mecanismos de resistencia que presentan estas comunidades y las posibilidades de utilizarlas en procesos biomineros o de biorremediación de As.

## IMPORTANCIA DE LA SOJA SOBRE LA FLORA BACTERIANA INTESTINAL DE LA CHINCHE VERDE

Medina V<sup>1</sup>, Sardoy P<sup>1</sup>, Soria M<sup>1</sup>, Vay CA<sup>3</sup>, Gutkind G<sup>2</sup>, Pagano EA<sup>1</sup>, Zavala JA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA) – CONICET. Av San Martín 4453, Ciudad de Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires, BA, Argentina, <sup>3</sup>Laboratorio de Bacteriología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. Email: vmedina@agro.uba.ar

La chinche verde, *Nezara viridula*, es una de las plagas más importantes del cultivo de soja ya que se alimenta de sus semillas a pesar de las altas defensas de la planta. Las bacterias que colonizan el intestino de estos insectos podrían tener un rol en la tolerancia a los antinutrientes de la soja, como son los inhibidores de proteasas e isoflavonoides. Para caracterizar la comunidad microbiana del intestino de *N. viridula*, se realizaron 20 colectas en seis sitios de producción sojera de la provincia de Buenos Aires y Córdoba. Se caracterizó la flora microbiana intestinal relacionada con insectos adultos durante diferentes estaciones del año; su diversidad y estabilidad frente a distintas dietas y en distintos sitios geográficos. Se utilizaron técnicas de cultivo y moleculares (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis, secuenciación de 16SrRNA, MALDI-TOF), y análisis bioquímicos (API20E y API50CH). Las primeras colectas se realizaron entre los meses de septiembre y marzo, en los que *N. viridula* se encontraba en hospederos secundarios (HS) (*M. nigra*, *C. illinoensis*, *G. triacanthos*, *A. lappa*). De marzo a mayo, se colectaron en soja, y en diapausa en invierno, debajo de la corteza de los eucaliptus. De 80 adultos estudiados el 28% presentaron la porción media del intestino colonizado por bacterias ( $>10^4$  UFC/mg intestino). Este resultado no dependió del sitio de colecta o el hospedero. Se observó mayor diversidad bacteriana cuando la chinche se alimentaba de HS influida por una flora transitoria, en recuentos  $<100$  UFC/mg. Se encontró una relación permanente entre *N. viridula* y dos familias, Enterobacteriaceae y Enterococcaceae, con un aumento en la abundancia y diversidad cuando la chinche se alimentaba de soja y en diapausa. Se identificaron cepas de *Yokenella regensburgei*, *Enterococcus* spp., *Cedecea* spp. y *Pantoea* spp. con un 52%, 23%, 0.02% y 0.01% de presencia, respectivamente. En general, el intestino medio se encontró colonizado por un solo género bacteriano. Análisis filogenéticos confirmaron la pertenencia de estos aislados al género *Yokenella* con una relación estrecha con el género *Klebsiella*. La presencia de un simbionte no cultivable colonizando la cloaca también fue descrita y estuvo presente en el 100% de los casos analizados. Este organismo está emparentado con *Erwinia* spp. y *Pantoea* spp., y guarda una estrecha relación filogenética con otros ya descritos en *N. viridula* en Brasil, EEUU, Hawai y Japón. Finalmente, las cepas aisladas resultaron positivas para actividad rafinasa y b-glucosidasa lo que permitiría la degradación de rafinosa e isoflavonoides, dos antinutrientes de la soja. Nuestros resultados demuestran que el intestino de *N. viridula* presenta una diversidad microbiana muy baja aunque estable, con unos pocos géneros capaces de colonizarlo. Los dos más importantes, *Yokenella* spp. y *Enterococcus* spp. podrían tener un rol importante en la supervivencia de la chinche verde en soja.

## METAGENÓMICA DE AMBIENTES COSTEROS FRÍOS ANTÁRTICOS Y SUBANTÁRTICOS

Espínola F<sup>1</sup>, Dionisi H<sup>1</sup>, MacCormack W<sup>2,3</sup>, Jansson J<sup>4</sup>, Lozada M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Ambiental, Centro para el Estudio de Sistemas Marinos. Centro Nacional Patagónico (CESIMAR-CENPAT-CONICET), Puerto Madryn, Argentina, <sup>2</sup>Instituto Antártico Argentino, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, <sup>3</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, <sup>4</sup>Pacific Northwest National Laboratory, Richland, WA, USA. Email: lozada@cenpat-conicet.gov.ar

Los microorganismos ambientales habitan en comunidades altamente complejas e interdependientes, las cuales llevan a cabo múltiples procesos esenciales para el ecosistema. La metagenómica constituye una poderosa herramienta para el acceso a las posibles funciones metabólicas de las comunidades microbianas, dada la imposibilidad de cultivar la gran mayoría de sus miembros. El objetivo de este trabajo fue analizar el potencial metabólico de las comunidades microbianas de ambientes marino-costeros fríos (Bahía Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina, ARG; y Caleta Potter, Isla 25 de Mayo, Shetlands del Sur, Antártida, ANT), y su relación con variables ambientales naturales y antropogénicas. Para ello, se analizaron datos de secuenciación al azar en gran escala del metagenoma de 12 muestras de sedimento (6 de ARG, y 6 de ANT) secuenciados con la plataforma Illumina HiSeq 1500 con una profundidad de una calle por muestra. Se generaron  $2,70 \pm 0,84 \times 10^8$  lecturas por muestra (2 x 150 pb), las cuales fueron ensambladas, y anotadas en la plataforma IMG/M (<http://img.jgi.doe.gov/m/>).

El set de datos contiene  $5,82 \pm 2,14 \times 10^7$  secuencias codificantes de proteínas (*CDS*) en los metagenomas totales (ensamblados y no ensamblados). Sólo 4,5% a 29,2% de las lecturas mapearon en los *scaffolds*, evidenciando la extrema complejidad de estas comunidades. Se observó una mayor abundancia (Kruskal-Wallis,  $p < 0.05$ ) de lecturas asignadas a las familias Geobacteraceae y Pelobacteraceae (Deltaproteobacteria) en las muestras de ARG, las cuales presentaban mayores niveles de contaminación. El análisis del potencial metabólico de los metagenomas se basó en la asignación de *CDS* al sistema curado *KEGG Orthology (KO) Terms and Pathways* en los metagenomas totales. Análisis de ordenamiento basados en *KOs* mostraron una separación por región, y correlaciones significativas con variables ambientales claves como la salinidad y la temperatura ( $r^2 = 0,80$ ,  $p = 0,003$  y  $r^2 = 0,81$ ,  $p = 0,001$  respectivamente, función *envfit*, paquete *vegan/R*). Los análisis de correlación canónica (*CCA*) mostraron que las abundancias de *KOs* asociados a las vías degradativas de naftaleno, benzoato, xileno y nitrotolueno, ácidos grasos (también relacionada con el metabolismo de alcanos) y el metabolismo de azufre, correlacionaron con las variables asociadas a la contaminación. Los genes biomarcadores para la degradación anaeróbica de hidrocarburos aromáticos *bssA*, *bamA* y *OYE (Old Yellow Enzymes)*, mostraron abundancias relativas mayores en las muestras de ARG, evidenciando el potencial de biodegradación de las comunidades microbianas de los sitios más contaminados. Los resultados obtenidos sugieren un rol preponderante de procesos anaeróbicos de biodegradación de contaminantes en estos ambientes. Éste constituye el primer estudio ecológico de ambientes marinos de Argentina utilizando herramientas metagenómicas.



## ECOLOGÍA MICROBIANA DEL SUELO: ANÁLISIS DE REDES SOBRE DATOS METAGENÓMICOS

Orlowski J<sup>1</sup>, Soria M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología Agrícola. FAUBA-UBA/INBA-CONICET. Buenos Aires. Argentina.  
Email: orlowski@agro.uba.ar

El estudio de las comunidades microbianas utilizando datos de secuenciación de alto rendimiento permite descubrir patrones ocultos en la diversidad suelo. Una alternativa a los estudios de alfa y beta diversidad es determinar la co-ocurrencia de taxones bacterianos a través de diferentes tipos de suelos mediante el análisis de redes. Se realizó un análisis de datos metagenómicos provenientes de seis estudios en los que se usó el gen 16S ARNr como marcador de la diversidad bacteriana en suelos. El conjunto de datos constó de 218 muestras de seis ambientes diferentes: suelos cultivables, praderas, arbustales y bosques mixtos, tropicales y de coníferas. Luego del filtrado y normalización de los datos se realizó una rarefacción a 800 secuencias por muestra. El conjunto de datos final constó de 96 taxones a nivel de familia y 202 muestras. Con estos datos se construyeron matrices de similitud por taxones, una para cada estudio. Luego se aplicó el método “Similarity Fusion Matrix” (SFM) para obtener una red de co-ocurrencia consenso. Este procedimiento redujo el sesgo que se introduce en los análisis metagenómicos que utilizan técnicas de secuenciación. La red permitió visualizar como se agruparon los taxones con mayor frecuencia de co-ocurrencia. Finalmente, para confirmar los agrupamientos se aplicó el algoritmo “fast-greedy community”, un método específico para descubrimiento de conglomerados dentro de redes. Para validar estos resultados se utilizaron tests de permutaciones. El patrón de relaciones entre los taxones de la red mostró semejanzas con el observado típicamente en redes biológicas y sociales, donde la mayoría de los nodos (taxones) tienen pocas conexiones (co-ocurrencias), mientras que los nodos más conectados son poco frecuentes. Se detectaron cinco comunidades de familias bacterianas en el grafo. Cuatro de las comunidades estuvieron formadas mayoritariamente por bacterias Gram -, solo una presentó proporciones similares de miembros Gram + y Gram -. En las comunidades el tipo de metabolismo más frecuente fue el aerobio, pero también hubo presencia de facultativos, microaerófilos, y anaerobios. Con respecto a la respuesta a la temperatura, la mayoría de las familias encontradas fueron mesófilas. En el 80% de las comunidades también hubo presencia de psicrófilos y termófilos (15-40%). Esto sugeriría que en diversos ambientes coexisten microorganismos con diferentes estrategias de adaptación a la temperatura. Un patrón similar se observó con respecto al pH, co-ocurriendo microorganismos acidófilos, neutrófilos y alcalófilos; lo que podría explicarse por micrositios en el suelo. Este trabajo muestra la utilidad de las técnicas de grafos aplicadas al meta-análisis de estudios de diversidad microbiana en el que se involucran grandes volúmenes de datos metagenómicos.

PRODUCCIÓN DE BACTERIOCINAS EN *Pseudomonas* PGPRs: UNA HERRAMIENTA PARA LA SUPERVIVENCIA DE LAS BACTERIAS EN LA RIZÓSFERAGodino A<sup>1</sup>, Príncipe A<sup>1</sup>, Fernández M<sup>1</sup>, Morán F<sup>1</sup>, Fischer S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Río Cuarto. Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas. Email:principeanalia@gmail.com

La competitividad es uno de los factores principales a tener en cuenta a la hora de formular un inoculante basado en PGPRs. Las bacterias son capaces de producir bacteriocinas (antimicrobianos de espectro reducido) como una herramienta para la competencia. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue identificar posibles genes de bacteriocinas en los genomas de las PGPRs *Pseudomonas fluorescens* SF4c y SF39a. La búsqueda de genes de bacteriocinas se realizó utilizando herramientas bioinformáticas: BAGEL3, BLAST, ORF finder, Pfam. La capacidad de producir bacteriocinas de las cepas SF39a y SF4c fue analizada mediante un ensayo de inhibición en placa. Un mutante de la cepa SF39a en uno de los genes de bacteriocina fue construido mediante doble recombinación. En el genoma de la cepa SF39a se identificó un ORF que codifica para una bacteriocina similar a las piocinas tipo S (bacteriocina soluble de bajo peso molecular) y un cluster, de aproximadamente 40 genes, similar a los operones que codifican para las piocinas tipo R y F (bacteriocinas de alto peso molecular similares a colas de fagos). En el ensayo de inhibición en placa, la cepa SF39a fue capaz de inhibir bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Xanthomonas* mostrando halos de inhibición de gran diámetro, característicos de piocinas S. Halos más pequeños, característicos de piocinas R y F, no fueron observados. Un mutante en el gen de la piocina S (*pyoS*) fue realizado para confirmar que dicha bacteriocina es la responsable del halo de inhibición observado en placa. El mutante *pyoS*<sup>-</sup> mostró un fenotipo deficiente en la producción del halo más grande; sin embargo, se observó un halo pequeño alrededor de la colonia que correspondería a las piocinas R y F identificadas en el genoma. En la cepa salvaje, el halo pequeño fue enmascarado por el halo de mayor diámetro producido por la piocina S. Previamente, en nuestro grupo se demostró que la cepa SF4c es capaz de producir piocinas tipo fagos. En el genoma de dicha cepa se logró identificar el cluster completo para estas bacteriocinas, encontrando genes para piocinas tipo R y F, genes regulatorios y genes líticos. En el genoma de SF4c también se pudo identificar dos genes para piocinas tipo S. Al realizar los ensayos de inhibición observamos que SF4c produce dos tipos de halos diferentes según la cepa sensible a la que se enfrente: uno muy pequeño contra *P. fluorescens* CTR212, correspondiente a las piocinas tipo fagos, y otro de gran diámetro contra *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, que correspondería a las piocinas S identificadas en el genoma. Estos resultados indican que las cepas SF39a y SF4c son capaces de producir un gran número de bacteriocinas, con estructuras y espectros de acción muy variados, para competir con la flora nativa del suelo. Entender cómo estas bacterias compiten con poblaciones rizosféricas es crucial para lograr cepas de *Pseudomonas* efectivas como inoculantes.

PROYECTO GENOMA DE *Acidovorax avenae* cepa T10\_61, AGENTE CAUSAL DE ESTRÍA ROJA EN CAÑA DE AZÚCAR

Fontana PD<sup>1</sup>, Fontana CA<sup>2</sup>, Cocconcelli PS<sup>2</sup>, Vignolo GM<sup>3</sup>, Salazar SM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EEA INTA Famaillá, Tucumán. <sup>2</sup>Instituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Cremona-Italy. <sup>3</sup>CERELA-CONICET, Tucumán. Email: fontana.paola@inta.gob.ar

*Acidovorax avenae* es una fitobacteria responsable de varias enfermedades en cultivos de interés agronómico. Conocida anteriormente como *Pseudomonas avenae*, puede causar enfermedades en muchas plantas, como el arroz, el maíz, la avena, caña de azúcar, entre otras. En caña de azúcar, causa la estría roja, conocida también con el nombre de “polvillo”, la cual ha sido reportada en todas las áreas productoras de caña de azúcar del mundo. Los síntomas comienzan como estrías acuosas que gradualmente toman coloración rojiza. En las lesiones nuevas es común observar exudados de la bacteria. Posteriormente los síntomas se extienden hacia el meristema apical que se vuelve húmedo como consecuencia de la muerte de los tejidos, causando podredumbre del brote. Esta enfermedad adquirió mayor relevancia en los últimos años, registrando pérdidas de hasta 30% de tallos molibles y afectando además calidad de jugos. Por otro lado la elevada presión de inóculo que se genera en los sitios de selección produce la eliminación de clones avanzados obtenidos en los programas de mejoramiento genético.

Debido a la importancia que reviste esta problemática, en la Estación Experimental INTA Famaillá de Tucumán, donde se desarrolla el programa de mejoramiento genético de la caña de azúcar, se iniciaron diversas líneas de trabajo tendientes a caracterizar e identificar a nivel molecular este patógeno, como así también estudios epidemiológicos básicos. En este trabajo se presenta el proyecto del secuenciamiento parcial del genoma de la cepa T10\_61, que se aisló de hojas con síntomas típicos de estría roja en caña de azúcar en la provincia de Tucumán.

El ADN genómico de la cepa T10\_61 fue secuenciado en un equipo HiSeq1000 Illumina Genoma; las lecturas fueron ensambladas utilizando el software Velvet (versión 1.1.04), que generó 105 contigs. Para analizar las secuencias obtenidas, se utilizó el servidor RAST. La anotación del genoma, reveló que el mismo incluye aproximadamente 5.646.552 pb, que codifican 5096 genes (CDS), 58 ARNt y contiene 480 subsistemas.

De los genes predichos en *A. avenae* un total de 525 se asocian al metabolismo de aminoácidos y derivados, 373 al metabolismo de carbohidratos, 107 relacionados al sistema de virulencia y defensa, entre otros. Estudios comparativos preliminares entre las secuencias nucleotídicas de *A. avenae* subsp. *citrulli* AAC00-1 y *A. avenae* T10\_61, evidencia regiones de >90% de identidad entre ambas secuencias. Por otro lado la comparación basada en la reconstrucción metabólica entre ambos microorganismos reveló 280 genes únicos presentes en *A. avenae* T10\_61 de los cuales 15 están relacionados a patogenicidad.

La información que arroja el análisis de secuencia permitirá contar con información genética adicional de la bacteria que puede proporcionar una base para futuras investigaciones agronómicas básica y/o aplicada principalmente en la interacción planta-patógeno.

ESTUDIO *IN SILICO* DE LOS PRODUCTOS GÉNICOS RELACIONADOS CON LA RUTA DE DEGRADACIÓN DE FENANTRENO DE UN CONSORCIO BACTERIANO

Macchi M<sup>1</sup>, Morelli IS<sup>1,2</sup>, Coppotelli BM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina, <sup>2</sup>Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina. Email: bibicoppotelli@gmail.com

La integración de la genómica y los estudios fisiológicos en ecología microbiana permite observar el potencial metabólico de comunidades degradadoras de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH), lo que es crucial para recrear y acelerar los procesos naturales así como para llevar a cabo su manipulación racional para diseñar biocatalizadores más eficientes para diferentes aplicaciones biotecnológicas.

En estudios previos se obtuvo un consorcio natural degradador de fenantreno (CON) de un suelo crónicamente contaminado con PAH a partir del cual se aislaron las cepas *Sphingobium* sp. (AM), *Pseudomonas* sp. (T y Bc) y *Enterobacter* sp. (B). En este trabajo se presenta el análisis de la secuenciación y ensamble parcial de los genomas de las cepas aisladas, en el cual se identificaron *in silico* genes codificantes relacionados con las vías de degradación de PAH. Esto se correlacionó con estudios en cultivo puro para intentar dilucidar su funcionalidad dentro del CON.

Las secuencias genómicas fueron obtenidas utilizando el método whole genome shotgun (WGS), utilizando un secuenciador Illumina HiSeq1500 generando lecturas tipo paired-end (PE) 2x100bp (INDEAR, Rosario, Argentina), las lecturas resultaron en una cobertura de los genomas de 500x. Se obtuvieron un promedio de 97 scaffolds por cepa abarcando un promedio de 5,9 Mbp. La anotación funcional de los genomas se realizó utilizando el servidor de anotación RAST.

En los 4 genomas se encontraron productos génicos de enzimas dioxigenasas iniciales y otras dioxigenasas de las vías superior e inferior de la degradación de PAH como: el sistema multienzimático naftaleno/bifenilo dioxigenasa (EC 1.14.12.18) formado por la subunidad mayor ( ) y la subunidad menor ( ) (que proviene de varias copias de genes en AM); catecol 1,2-dioxigenasa (EC 1.13.11.1), protocatechuato 3,4-dioxigenasa (EC 1.13.11.3), homogentisato 1,2-dioxigenasa (EC 1.13.11.5), gentisato 1,2-dioxigenasa (EC 1.13.11.4). También se encontraron productos génicos de reguladores transcripcionales que controlan la expresión de las rutas catabólicas de la degradación de compuestos aromáticos, como CatR y NtrC y otros pertenecientes a las familias AraC, FNR, MarR y GntR.

A pesar de estas observaciones, en cultivos puros sólo AM mostró degradar fenantreno (F) y ácido 1-hidroxi 2-naftoico (AHN); en T, Bc y B el potencial de degradación no pudo observarse; aunque T y Bc mostraron crecimiento en F, AHN y ácido salicílico.

El análisis *in silico* de los genomas reveló que todas las cepas podrían producir enzimas de las vías de degradación de PAH, sin embargo en cultivos puros, sólo la cepa AM mostró capacidad de degradar PAH o sus intermediarios. La diversidad que conforma el CON original podría estar justificada por la regulación de los genes que codifican enzimas intervinientes en la ruta así como la ampliación de la capacidad degradadora total en presencia de los subproductos de degradación o en situaciones ambientales diferentes.

## PREMEZCLA PARA PANIFICADOS A BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA. CONTROL MICROBIOLÓGICO DURANTE SU ALMACENAMIENTO

Chade ME<sup>1</sup>, Zubreski E<sup>1</sup>, Milde LB<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (FCEQyN). Módulo de Farmacia y Bioquímica. Posadas Misiones. Email: miriamchade@gmail.com

Las premezclas alimenticias facilitan la elaboración de alimentos, principalmente en personas cuya salud depende de la dieta. Un ejemplo son los celíacos, que son intolerantes al gluten presente en trigo, avena, cebada y centeno y deben recurrir a diferentes harinas y féculas para elaborar sus alimentos, ya que su bienestar depende exclusivamente de la dieta. Los alimentos libres de gluten contienen fécula de mandioca en diferentes concentraciones; la misma es considerada producto regional de la provincia de Misiones, por lo cual, investigadores de la FCEQyN desarrollaron una premezcla para panificados utilizándola como materia prima principal. La vida en góndola o vida útil, es el tiempo máximo recomendado para alimentos de consumo humano; después de este periodo cambian sus características físicas, químicas, microbiológicas y organolépticas que suelen ser dañinas para la salud. Determinar la vida en góndola, según su composición química, significa tenerlos bajo estudios varios meses, realizando pruebas de humedad y control microbiológico. La humedad en alimentos constituye un punto crítico de control; el manejo de este parámetro permite alcanzar elevados rangos de calidad sensorial, debido a que el desarrollo de microorganismos se ve estrechamente relacionado con la cantidad de agua presente en un producto determinado. Los mohos y las levaduras debido a su crecimiento lento y a su baja competitividad, se manifiestan en los alimentos donde el crecimiento bacteriano es menos favorable. El objetivo de este estudio fue evaluar la vida útil de una premezcla de panificados a base de fécula de mandioca, almacenada sin conservantes. La premezcla para panificados se preparó con las materias primas: fécula de mandioca y harina de maíz (80:20) e ingredientes sólidos: levadura deshidratada, azúcar, sal y leche entera en polvo como aditivo natural; sin agregado de conservantes químicos. Para el seguimiento del control microbiológico y humedad durante su almacenamiento a temperatura ambiente, la premezcla se envasó en bolsas de papel aluminio de 400 g cada una, rotuladas y selladas con cinta adhesiva plastificada, que se mantuvieron en lugar fresco y seco durante 12 meses, a temperatura ambiente que osciló entre 19-40°C; se procedió a la evaluación de la vida útil cada 4 meses. Se utilizaron los métodos analíticos AOAC, 925.09 (1995) para humedad. El análisis bacteriológico de la premezcla se realizó según requerimientos de la *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) 2000, a partir de una dilución de  $1 \times 10^{-1}$  en agua peptonada al 0,1%, se sembraron diluciones en los medios PCA (Plate Count Agar) para aerobios mesófilos, Caldo Verde brillante con campana Durham y Agar VRBA para coliformes totales y Caldo EC y Mac Conkey Agar para *Escherichia coli*; las placas fueron incubadas a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y  $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24 y 48 h según el microorganismo en estudio. Para evaluar desarrollo de hongos y levaduras se trabajó según normas ISO 7218/2007, con una dilución 1/10 de la premezcla en solución fisiológica y se sembró 0,1 ml de la solución en agar glucosado de Saboraud y agar extracto de levadura glucosa cloranfenicol (YGC); las siembras se incubaron a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 5 días. El análisis estadístico ANOVA reportó diferencia significativa para humedad a los diferentes meses ( $p=0,0001$ ), con disminución del 13,02 % al 10,40 % a los 12 meses de almacenamiento. Los resultados de los análisis bacteriológicos fueron: mesófilos aerobios totales  $< 10$  UFC/g, coliformes, *Escherichia coli* y *Salmonellas* ausencia de UFC/g en 25g de muestra. El recuento fúngico resultó  $< 10$  UFC/g en todas las determinaciones durante los meses de estudio. Debido a que durante el periodo de tiempo de almacenamiento evaluado, la premezcla para panificados elaborada a base de fécula de mandioca y aditivos naturales, presentó las condiciones normatizadas de asepsia e inocuidad, se considera adecuada para llegar a cualquier tipo de consumidor. El desarrollo de esta premezcla, se presentaría como una alternativa productiva que utiliza una materia prima regional, como la fécula de mandioca, dando valor agregado a la producción primaria de Misiones.

## LEVADURAS ADAPTADAS AL FRÍO: TOLERANCIA AL ESTRÉS Y PRODUCCIÓN DE METABOLITOS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO

Duo Saito RA<sup>1</sup>, Moliné M<sup>1</sup>, de Garcia V<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología Aplicada y Biotecnología, CRUB, Universidad Nacional del Comahue. INIBIOMA – CONICET. Email: rubi05azul@gmail.com

Los ambientes fríos presentan desafíos para el desarrollo de los microorganismos; las bajas temperaturas afectan el metabolismo, disminuyen la tasa de crecimiento e inciden en las funciones de membrana (permeabilidad, rigidez, captación de nutrientes y balance osmótico). Las levaduras poseen una amplia gama de estrategias para sobrevivir en ambientes con múltiples factores de estrés, entre las que se encuentran la producción de metabolitos secundarios, como glicerol, micosporinas, ergosterol y trehalosa. En este trabajo se estudió la respuesta de diferentes levaduras ante el estrés osmótico y térmico, y su relación con la producción de los cuatro metabolitos secundarios mencionados anteriormente. Se utilizaron 42 cepas de levaduras aisladas de ambientes naturales templados-fríos, y se analizó la capacidad de crecer en medio sólido con diferentes concentraciones de solutos (3 a 12,5 % de NaCl y 50 % de glucosa) y a diferentes temperaturas (de 5 a 30°C). De estas se seleccionaron 5 cepas que presentaron crecimiento a temperaturas menores a 15°C y/o salinidad ( a 5% de NaCl); *Phaffia* sp. I ZP875 (psicrotolerante), *Mrakiella* sp. CRUB1272 (psicrófila), *Cryptococcus victoriae* CRUB2064, *Debaryomyces hansenii* CRUB2079 y *Saccharomyces eubayanus* CRUB1939 (poliextremotolerantes). Las cepas se cultivaron en medio líquido (MMS) a dos temperaturas (5 y 18°C) y en dos condiciones osmóticas diferentes (sin NaCl y con 5% de NaCl), en estas condiciones se caracterizó la producción de biomasa y de metabolitos secundarios (micosporinas, trehalosa, glicerol y ergosterol). La producción de biomasa se correspondió con los perfiles de cada cepa: psicrófilo (mayor producción a 5°C), psicrotolerante (mayor producción a 18°C) y poliextremotolerante (crecimiento equivalente en ambas temperaturas). La producción de glicerol y ergosterol fue mayor cuando las cepas se cultivaron en medios con 5% NaCl. La mayor producción de glicerol se dio a 5°C, mientras que la mayor producción de ergosterol fue a 18°C. La producción de micosporinas fue máxima a 18°C en medio sin NaCl. Mientras que la relación entre las condiciones de cultivo y la producción de trehalosa fue variable, mostrando una mayor producción basal en las cepas fermentadoras cultivadas a bajas temperaturas. Los resultados de este trabajo revelan que levaduras adaptadas al frío responden ante el estrés variando la acumulación de los metabolitos evaluados, permitiendo analizar las estrategias empleadas ante condiciones ambientales extremas y provee información útil para la optimización de procesos industriales.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA DE *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* AUTÓCTONA DE LA ZONA GEOTERMAL CAVIAHUE-COPAHUE Y SUS POSIBLES APLICACIONES EN BIOMINERÍA

Guisande Donadio CE, Castro CA, Urbietta MS, Donati ER

CINDEFI (CONICET CCT LA PLATA), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP  
Email: castro.camila@biotec.quimica.unlp.edu.ar

La extracción de metales a partir de minerales sulfurados por técnicas biomineras tiene evidentes ventajas por sobre las tradicionales técnicas pirometalúrgicas e hidrometalúrgicas. Entre ellas se incluyen reducción de emisiones tóxicas, simplicidad operacional y menores costos. Estas técnicas pueden aplicarse sobre minerales de baja ley o aquellos recalcitrantes a las técnicas tradicionales. El auge de la biominería ha llevado a la búsqueda de nuevos microorganismos hierro y/o azufre oxidantes, especialmente los que pueden sobrevivir a mayor temperatura y menor pH, lo que permitiría acelerar y optimizar la extracción de metales. Estos microorganismos habitan, entre otras, las zonas geotermales de origen volcánico. En Argentina uno de esos ambientes es la región Caviahue-Copahue (noroeste de Neuquén) que se encuentra bajo la influencia del volcán Copahue. Su continua actividad hace que la zona presente gran cantidad de fumarolas y pozos con diferentes condiciones de temperaturas, desde moderadas hasta cercanas a los 90 °C y pH, desde neutros hasta muy ácidos. El objetivo del presente trabajo fue aislar microorganismos acidófilos, hierro y/o azufre oxidantes, termófilos moderados, de la región geotermal Caviahue-Copahue, caracterizarlos y evaluar su potencial uso en biominería. Se tomaron muestras de líquidos y sedimentos de una de las manifestaciones geotermales de Copahue, la zona de Baño 9, con una temperatura de 54°C y pH de 2,4. Estas muestras fueron enriquecidas utilizando un medio mineral ajustado a pH 2 y suplementado con hierro(II) y azufre, en frascos Erlenmeyer agitados e incubados a 45°C. Para el aislamiento de los microorganismos acidófilos y autótrofos crecidos en los cultivos de enriquecimiento se utilizó la técnica de la doble capa de agarosa que implica una capa inferior donde se inocula un microorganismo capaz de consumir los productos de la hidrólisis ácida de la agarosa que son tóxicos para la mayor parte de los microorganismos buscados y una capa superior suplementada con hierro(II) y tetrionato de potasio. Una de las colonias obtenidas fue inoculada en medio mineral suplementado con hierro(II) y a partir de allí se caracterizó el aislado, molecular y fisiológicamente. El potencial uso en biominería se evaluó a través de la biolixiviación de un mineral sulfurado con 8% p/p de cinc proveniente de Hualilán (San Juan, Argentina). La experiencia se realizó en frascos Erlenmeyers conteniendo 150 mL de medio mineral pH 2 y con densidad de pulpa del 2%. Los sistemas fueron suplementados con diferentes fuentes de energía e incubados en agitación a 45°C. La amplificación, secuenciación y posterior análisis del gen ARNr 16S indicó que se trataba de una cepa de *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* (B9-FeOx). Las hibridaciones con sondas específicas de *Bacteria* (EUB338) y del género *Sulfobacillus* (SUL228) confirmaron que se trataba de un cultivo puro de este género. La velocidad de crecimiento con hierro(II) como única fuente de energía fue de 0,35 h<sup>-1</sup>. Además esta cepa fue capaz de crecer a expensas de la oxidación azufre y tetrionato. En la experiencia de biolixiviación, se logró una recuperación del 60% de cinc luego de 45 días, demostrando la capacidad biolixivante de B9-FeOx.

## SELECCIÓN DE BACTERIAS DE AMBIENTES TEMPLADOS-FRIOS PARA CONFORMAR UN CONSORCIO MICROBIANO PARA SU USO EN ACUICULTURA

Fernández M<sup>1</sup>, Martínez Díaz SF<sup>2</sup>, González Acosta B<sup>2</sup>, Pignoni L<sup>1</sup>, Garcés MB<sup>1</sup>, Cubitto MA<sup>3</sup>, Olivera NL<sup>1</sup>, Sequeiros C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional Patagónico (CENPAT) - CONICET, Pto. Madryn, Chubut, <sup>2</sup>Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN), La Paz, Baja California Sur, México,

<sup>3</sup>Universidad Nacional del Sur. Dpto. Biología, Bioquímica y Farmacia.

Email: melania.fm20@gmail.com

Para países como México y Argentina, con extensas costas e importantes fuentes de aguas continentales, la acuicultura es una alternativa para el sector productivo. Sin embargo, puede traer serias consecuencias ambientales debido al deterioro del suelo, liberación de antibióticos y dispersión de patógenos. Una alternativa para reducir este impacto es el empleo de mezclas de microorganismos benéficos, llamados probióticos, como sistema de control biológico. El objetivo del presente trabajo fue aislar y caracterizar bacterias de ambientes templados-fríos de las costas del Norte de la Patagonia argentina para su potencial aplicación dentro de un consorcio microbiano que sea adaptable a condiciones variantes de temperatura y salinidad. Los aislamientos se realizaron a partir de sedimentos y raíces de plantas del intermareal de la costa patagónica utilizando agar Trypticase Soja (TS) y De Man, Rogosa y Sharpe (MRS) con NaCl (2% p/v) a una temperatura de 18°C durante 24 a 72h. Se evaluó la actividad hemolítica en agar sangre. Se analizó, mediante la técnica de la doble capa, la actividad antimicrobiana de las cepas frente a diferentes ictiopatógenos. Además, se evaluó la actividad metabólica de cada cepa mediante el análisis de diversas enzimas extracelulares: amilasas, suplementando el medio sólido con 0,2% de almidón soluble; lipasas con tween 60 y proteasas con el agregado de gelatina al 3%. La hidrofobicidad se determinó utilizando los coeficientes de partición de la suspensión bacteriana entre la fase acuosa y xileno. La asimilación de amonio del medio de cultivo se determinó utilizando el Kit Ammonia NH<sub>3</sub>/ NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Para evaluar toxicidad de los productos extracelulares de las cepas se realizó un bioensayo con nauplios de *Artemia*. Se evaluó la compatibilidad de crecer en conjunto mediante ensayos de co-cultivo. La filiación taxonómica se determinó mediante la secuenciación parcial y análisis filogenético del gen ARNr 16S. Fueron seleccionadas 29 cepas no hemolíticas de las cuales 6 presentaron actividad antimicrobiana contra al menos una de las cepas indicadoras, 3 cepas presentaron actividad amilasa, 9 actividad lipasa y 15 mostraron actividad proteasa. Dos de las cepas (TR18 A y TR30) resultaron altamente hidrofóbicas y 10 fueron capaces de reducir la concentración de amonio presente en el medio. Solo 4 cepas de las evaluadas disminuyeron considerablemente (< 20%) la supervivencia de los nauplios de *Artemia*. Se identificaron 15 cepas de las cuales 7 pertenecieron al género *Bacillus*, 2 a *Aerococcus*, 4 a *Staphylococcus*, 1 a *Psychrobacillus*, y 1 a *Burkholderia*. Por sus características probióticas *in vitro* 2 cepas pertenecientes al género *Bacillus* (TR15-1B y CA1) y 1 al género *Psychrobacillus* (CG3) fueron elegidas para formar parte de un consorcio microbiano para futuros ensayos *in vivo*.



DETECCIÓN DE SECUENCIAS CORRESPONDIENTES AL GEN *mamA* EN SEDIMENTOS ANTÁRTICOS MARINOS Y LACUSTRES

Coria SH<sup>1</sup>, López JL<sup>2</sup>, Lirio JM<sup>1</sup>, Vignoni PA<sup>3</sup>, Kopalová K<sup>4,5</sup>, Lecomte KL<sup>6</sup>, Gargiulo JD<sup>7</sup>, Chaparro MA<sup>7</sup>, Vázquez S<sup>8</sup>, Dionisi HM<sup>9</sup>, Lozada M<sup>9</sup>, Mac Cormack WP<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Antártico Argentino, Campus Miguelete, San Martín, Buenos Aires, <sup>2</sup>Cátedra de Virología, FFyB, UBA, <sup>3</sup>Escuela de Geología - FCEFN-UNC, Córdoba, <sup>4</sup>Charles University, Praga, Rep. Checa, <sup>5</sup>Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, T ebo , Rep. Checa, <sup>6</sup>CICTERRA-CONICET-UNC, Córdoba, <sup>7</sup>CIFICEN, CONICET-UNCPBA, Tandil, <sup>8</sup>NANOBIOTEC (UBA-CONICET)<sup>9</sup>, Centro Nacional Patagónico-CONICET, Bvd. Brown 2915, Puerto Madryn, Chubut. Email: silviahcoria@gmail.com

Las bacterias magnetotácticas (MTB) representan un grupo heterogéneo de organismos gramnegativos, ubicuo, presentes en la zona de transición óxica-anóxica de diversos hábitats acuáticos. Las MTB presentan magnetotaxis, es decir que se orientan con el campo magnético terrestre, gracias a la biosíntesis de cristales de magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) o greigita (Fe<sub>3</sub>S<sub>4</sub>) dentro de una estructura de membrana llamada magnetosoma. Asociada a la membrana del magnetosoma se encuentra la proteína MamA: magnetosome associated TPR-containing protein. Los TPR (tetratricopeptide repeats) permitirían la interacción proteína-proteína en complejos multiproteicos. Se analizaron 11 muestras de sedimentos de dos regiones de la península antártica: lacustres de Isla Vega y marinos de Caleta Potter. Las muestras de Isla Vega fueron sometidas a un proceso doble de enriquecimiento magnético obteniéndose una biomasa bacteriana a partir de la cual se aisló ADN genómico total que se usó como templado para la detección del gen *mamA* mediante PCR anidada utilizando dos pares de primers diseñados específicamente para este trabajo, determinando un producto de amplificación de 252 pb. Con la muestra de la laguna Pan Negro se obtuvo un producto del tamaño esperado, cuya secuencia nucleotídica comparte 99% de identidad con el gen *mamA* de *Magnetospirillum magnetotacticum* (AY508230).

Por otro lado, se realizó la búsqueda de secuencias correspondientes a *mamA* en seis metagenomas de sedimentos de Caleta Potter obtenidos previamente por autores de este trabajo y públicos en la plataforma IMG/M (<http://img.jgi.doe.gov/m/>; Gs0063447). Se construyó un árbol filogenético con las secuencias obtenidas de los metagenomas, la secuencia lacustre y las secuencias más relacionadas depositadas a la fecha en bases de datos. Se observó un origen homólogo para todas las secuencias incluidas en el análisis. A su vez, la secuencia obtenida de Pan Negro representa una secuencia cercana a las del género *Magnetospirillum* mientras que las secuencias de los sedimentos marinos se ubican en un grupo separado junto con las secuencias de otras MTB.

El estudio de las MTB es relevante tanto desde un punto de vista académico y biotecnológico. Hasta el presente, y a pesar de considerarse ubicuos, hasta donde sabemos este sería el primer reporte de la presencia de MTB en Antártida a excepción de aquellos estudios que refieren a la presencia de magnetofósiles, los cuales datarían del paleoceno-eoceno.

## VARIACIÓN ESPACIAL Y ESTACIONAL DE LAS BACTERIAS MARINAS DE CALETA POTTER, ANTÁRTIDA

Hernández EA<sup>1,4</sup>, Lopez JL<sup>2</sup>, Buma, AGJ<sup>3</sup>, Mac Cormack WP<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Antártico Argentino. Departamento de Microbiología Ambiental, Argentina, <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Virología, Argentina, <sup>3</sup>University of Groningen, Ocean Ecosystems, Energy and Sustainability Research Institute, The Netherlands, <sup>4</sup>Instituto NANOBIOTEC (UBA-CONICET), Argentina. Email: ehernandez@ffyb.uba.ar

En las aguas oceánicas el bacterioplancton marino juega un papel clave en el ciclo de nutrientes y constituye un factor importante en el flujo de carbono. Además, en las regiones polares son fundamentales para las interacciones océano-atmósfera y la red trófica oceánica. Actualmente no existen trabajos sobre la comunidad bacterioplancton en Caleta Potter, ubicada en la Isla 25 de Mayo (King George Island), Antártida. Nuestro objetivo fue estudiar, mediante la construcción de bibliotecas de clones del ADNr 16S, la estructura del bacterioplancton y su variación espacio-temporal. Se tomaron muestras de agua superficial (10 l) de Caleta Potter desde botes Zodiac, utilizando botellas Niskin, en tres zonas con diferente salinidad, en verano e invierno: E1 (62° 13,935' S, 58° 39,990' O), ubicado en la zona interior de la caleta, E2 (62° 14,011' S, 58° 41,443' O) en la zona externa y E3 (62° 14,064' S, 58° 39,402' O) en la desembocadura del arroyo Potter. Las muestras de agua fueron filtradas por filtros de 0,22 µm y se aisló el ADN genómico a partir del cual se amplificó el gen del ARNr 16S usando los *primers*: 27f y 1492r. Se construyeron 5 bibliotecas de clones y se seleccionaron al azar aproximadamente 200 colonias blancas de cada biblioteca (E1 invierno, E2 invierno, E1 verano, E2 verano, E3 verano). Se obtuvieron un total de 883 secuencias entre las cinco bibliotecas. Las secuencias fueron alineadas y editadas utilizando el programa BioEdit. La reconstrucción filogenética se realizó utilizando Mega 5.1 y el método de Neighbour Joining con un bootstrap de 1000. El phylum Proteobacteria alcanzó valores de hasta un 90% de las secuencias en la E1 verano, siendo Gammaproteobacteria la clase más abundante, con un 71% de secuencias de las cuales el 54% no pudieron ser clasificadas. Con respecto a los cambios temporales en E1, las Gammaproteobacteria disminuyeron de 112 secuencias en invierno a 68 en verano y las Alphaproteobacteria (orden Rhodobacterales) se incrementaron de 9 a 23. En ambos casos las diferencias entre secuencias fueron altamente significativas ( $P > 0,001$ ). En la E2, por el contrario, solo en las Alphaproteobacterias los órdenes Rhodobacterales se incrementaron de 12 a 37 secuencias en el verano ( $P > 0,001$ ) y los Sphingomonadales de 3 a 15 secuencias ( $p > 0,001$ ). Si comparamos E1 y E2 en invierno y en verano las secuencias del phylum Proteobacteria fueron mayoritarias en E1 y mostraron diferencias significativas en ambas estaciones ( $p > 0,001$ ). En cambio, el phylum Bacteroidetes mostró que la cantidad de secuencias en E2 duplicaron a las presentes en E1 ( $p > 0,01$ ). La E3 posee las mayores diferencias, destacándose un significativo ( $P > 0,001$ ) número de 43 secuencias de Actinobacterias comparadas con las pocas observadas en E1 y E2. Lo mismo ocurrió con los Sphingomonadales inexistentes en el verano en E1 y E2 y llegando a 24 secuencias en E3. Además, no se observaron secuencias de *Pelagibacter* y *Polaribacter* en E3, siendo muy abundantes en E1 y E2. El presente estudio de la composición general del bacterioplancton marino de las aguas superficiales de Caleta Potter mostró que los grupos dominantes son miembros de las clases Gammaproteobacteria y Alphaproteobacteria y, en menor medida, de los phyla Bacteroidetes y Actinobacteria (siendo este último dominante en aguas de baja salinidad de E3). Es interesante resaltar el hecho de que Rhodobacterales mostraron una marcada variación estacional, con una mayor dominancia en el verano respecto al invierno. La escasa presencia de miembros del phylum Cyanobacteria en los mares antárticos podría sugerir que Rhodobacterales podrían jugar un rol importante como productores primarios en este ecosistema marino. Finalmente, el elevado número de ribotipos no clasificables, principalmente de Gammaproteobacteria, representa un aporte original de secuencias a las bases de datos y sugieren que podrían ser endémicos de Caleta Potter.



# ÍNDICE GENERAL DE AUTORES



**A**

Ábalo, M	A-69
Acebal, C	B-64
Acevedo, C	A-6
Acosta, C	A-27, B-2
Agüero, FA	A-40
Aguirre, B	B-33
Agustini, JA	B-34
Albarracín Orio, AG	A-12
Albarracín, V	B-66
Alberione, E	A-3
Albo, GN	A-1, A-2
Alfonso D	B-57
Allegrini, M	A-32
Alonso, MZ	B-5, B-49
Altamirano, PR	A-1, A-2
Altier, N	A-68
Aluffi, M	A-26, B-56
Álvarez Roncancio, J	B-48
Amalvy, JI	B-29
Amenta, A	A-58
Amigo, JA	B-10
Amoroso, MJ	O-11
Ancarola, M	B-1
Andreoli, YE	A-36
Angelini, JG	A-42
Anzuay, MS	A-42
Aparicio, VC	B-12
Arias, SL	A-63
Armada, E	A-50
Arroyo, M	B-64
Astiz Gassó, MM	A-69
Audisio, MC	O-22
Azcón, R	A-50

**B**

Bachetti, R	O-3
Bacigaluppo, S	A-34
Badaracco, A	A-54
Badariotti, EH	B-52
Balagué, L	B-8
Balatti, PA	B-8
Banchio, E	A-47, A-48
Barassi, C	A-58
Barberis, CL	A-26, B-56
Barbieri, PA	A-44
Barlocco, C	A-68
Baroni, S	B-48
Barrera, V	A-15
Barrera, VA	A-69, B-24
Barril, P	B-33
Barrios, H	O-20

Barros, G	B-16
Bedmar, E	A-45
Belfiore, C	B-66
Bellotti, N	B-30
Benavides, L	A-31
Benavidez, I	A-71
Benavidez, M	B-28
Benintende, G	O-19, A-18, A-21, A-22, A-23, B-57, B-62
Beoletto, V	A-8, A-10
Berli, F	O-9
Bernabeu, PR	A-56
Bernardi Desch, NP	A-20
Berretta, M	O-19, A-18
Bertiller, MB	B-26
Bettera, C	A-38, A-39
Beyhaut, E	A-68
Bianchini, L	B-47
Biancotti, A	B-2
Biganzoli, F	B-18
Blustein, G	B-31
Bogino, PC	A-29, A-49
Bonacci, M	B-16
Borrajo, MP	A-58
Bottini, R	O-9, A-40, A-41
Brücher, E	A-12
Bruschi, J	B-49
Bucsinszky, AM	A-64
Buma, AGJ	B-81

## C

Cabello, MN	A-24, B-35
Cabral, JSR	B-11, B-13, B-23
Cabrales, I	A-6
Caimán, C	B-41
Camargo, A	B-3
Canullo, R	B-52
Caporalini, F	O-3
Cappellari, LR	A-47, A-48
Cardozo, MC	A-57
Carezzano, ME	A-3, A-4, A-10, A- 11
Carletti, SM	A-14
Carlino, ME	B-68
Carranza, CS	A-26, B-56
Carrasco, F	A-5, A-43
Carrón, AI	A-28
Casanova, MEL	B-46
Casanovas, M	A-58
Cassán, F	O-24, A-28, A-45, A-70, A-71
Cassiolato, AMR	B-11, B-34
Castañó, C	O-8
Castellari, C	A-36
Castillo, J	B-33

Castillo, VGA	B-46
Castro, CA	B-78
Cavagnaro, RA	A-61
Cecotti, M	B-44
Cellucci, GC	B-68
Ceretta, MB	B-39, B-40
Ceribeli, MGA	B-11
Cesari, AB	O-10
Chade, ME	B-76
Chamorro, ER	B-55
Chaparro, MA	B-80
Chiocchio, VM	O-12, A-69
Ciancio, L	B-45, B-53
Cisneros, G	B-50
Cocconcelli, PS	B-74
Cohen, AC	A-40, A-41
Colombo, R	B-15
Combina M	B-59, B-60
Commatteo, JG	A-44
Conde Molina, D	O-1
Coniglio, A	O-24
Consolo, VF	A-44
Contreras, L	O-21
Coppotelli, BM	O-4, O-15, B-43, B-44, B-75
Córdoba, SB	A-1, A-2
Coria, SH	B-80
Cornejo, PE	B-25
Correa, OS	O-12, A-46
Cossoli, MR	A-25
Costa Gutierrez, SB	A-67
Costa, JL	B-12
Costa, LNR	B-11, B-13
Courel, G	B-21
Covacevich, F	A-44, B-12
Covelli, JM	A-53
Creus, CM	O-14, O-16, A-58, B-4, B-7 B-17, B-63
Cubitto, MA	B-79
Cuello, C	B-55
Curá, JA	B-1
Curatti, L	A-55

## **D**

Dames, JF	B-27
Dardanelli, MS	O-10
Dávila, MV	B-54
Daza, M	B-65
de Cristóbal, RE	A-67
De Franceschi, M	O-20
De Garcia, V	B-77
de Gerónimo, E	B-12
De la Mata, I	B-64
De los Ríos, P	O-6

Dediol, C	A-72, B-47
Del Panno, MT	O-4, O-5, B-29
Del Valle, EE	A-20
Delaporte Quintana, PAG	B-10
Della Vedova, R	A-1
Demo, MS	A-3, A-4, A-10; A-11
Deyá, C	B-30
Di Conza, J	B-36
Di Salvo, LP	B-68
Díaz Carrasco, JM	B-37
Diaz Delfino, A	A-36
Díaz Herrera, SM	O-23
Diaz Panero, M	B-33
Diaz Quiros, C	B-60
Dib, JR	O-21
Díez, O	A-38
Digonzelli, P	B-20
Dionisi, HM	O-13, B-71, B-80
Dominguez, JE	B-36
Dominici, LE	O-5
Donati, ER	B-69, B-78
Druille, M	A-51
Dublan, MA	A-55, B-38
Ducasse, DA	A-12
Duo Saito, RA	B-77
Durman, S	A-69
Durruty, I	B-39, B-40

## **E**

Eizaguirre, JI	O-6
Elíades, L	B-35
Erijman, L	B-12
Erra-Basells, R	O-22
Escobar Ortega, JS	A-27, B-2
Espeche, MC	A-69
Espínola, F	B-71
Espinosa-Urgel, M	A-67
Etcheverry, M	A-17

## **F**

Fabra, A	A-62
Faccia, PA	B-29
Farber, M	B-37
Faria, PSA	B-23
Farías, ME	B-66
Farrando, S	A-72, B-3, B-47
Fasciglione, G	A-58
Fernández Di Pardo, A	A-52, A-69; B-50
Fernández Miyakawa, ME	B-36, B-37
Fernández, A	O-7
Fernández, D	O-2
Fernández, M	A-13, B-73

Fernández, M	B-79
Fernandez, NV	A-28, B-25
Ferrando, L	O-7
Ferrarsi, G	A-35
Ferreras, JA	B-58
Ferreri, N	B-35
Festa, S	O-15, B-43
Figuerola, ELM	B-42
Fischer, S	A-13, B-73
Fontana, CA	B-74
Fontana, PD	B-74
Fontela, S	A-28
Fontenla, SB	B-25, B-27
Formento, AN	B-16
Forte Giacobone, AF	B-67
Fortunato, MS	B-48 B-51
Fracchia, S	A-5, A-43
François, NJ	O-16, B-63
Froilán, JF	B-39
Funes Pinter, MI	O-9, B-54

## G

Galeano V, NF	A-30
Galeano, DE	B-58
Galizio, R	B-38
Gallego, A	B-41
Gallego, A	B-48, B -51
Garcés, MB	B-79
García Alba, M	A-31
García Arhex, P	O-8
García de Salamone, IE	A-27, A-50, A-68, B-2
García Parisi, PA	A-51
García, JE	O-14, A-54, B-4
García, MC	B-5, B-49
García, SS	O-18, A-56
García-Ramón, D C	A-19, A-20
Gardella, N	A-69
Gargiulo, JD	B-80
Garibaldi, LA	A-28
Garmendia, G	B-61
Gasoni, L	A-7, A-15, B-24
Gaviria G, J	A-30
Gerometta, A	A-57
Ghezso, D	A-52, B-50
Giordano, WF	A-4, A-11, A-29, A-47, A-48, A-49
Giraudó, RT	A-25
Godeas, AM	A-52, B-15
Godino, A	A-13, B-73
Gómez de Saravia, SG	B-31
Gómez, AL	B-22
Gómez, E	A-32
Gonzales Anta, G	A-7



González, M	A-9, B-59, B-60
Gonzalez, AJ	A-65, B-41, B-51
Gonzalez, D	O-17
González, J	B-48
González, JF	B-40
Gonzáles Acosta, B	B-79
Gori, JI	B-55
Gorino, N	B-41, B-51
Gorriti ,M	B-66
Gortari, MC	A-16
Gottig, N	B-45, B-53
Grasso, D	A-37
Grattoni	A-2
Grellet Naval, N	B-21
Grimoldi, AA	A-51, A-61
Groppa, MD	O-23, B-4
Grossi, CEM	O-23
Grumelli, Y	B-33
Gruz, NA	B-1
Gualpa, J	A-70
Guardia Claros, L	A-27
Guerrero-Molina, MF	B-10
Guisande, CE	B-78
Gutkind, G	B-41, B-70

## **H**

Henning, C	A-1
Hernández Guijarro, K	B-12
Hernández, A	A-30
Hernández, EA	B-81
Hittinger, C	O-6
Hogert, EN	B-67
Hours, RA	A-16

## **I**

Iannone, LJ	A-33
Ibarra, C	A-31
Ibarra, J	B-9, B-15
Idone, LT	B-1
Iglesias, MC	O-18, A-25, B-22
Ingallinella, AM	B-45
Iturralde, ET	A-53

## **J**

Jansson, J	O-13, B-71
Juárez, MA	A-2
Jurcic, E	B-2

## **K**

Kleinbielen, TS	B-58
Kopalová, K	B-80
Korol, S	B-41, B-48, B-51

Kreclevich, N	A-54
Kurina Sanz, M	O-17
Kurth, D	B-66

## **L**

La Sala, LF	B-37
Lago, ME	A-34
Lamattina, L	B-17
Lami, MJ	A-67
Larraburu, EE	A-65
Larrandart, A	A-31
Lattanzi, FA	A-51
Laurino Soule, J	B-48
Lecomte, KL	B-80
Leggio Nemme, MF	B-20
Lernandez Bidondo, L	B-15
Lett, L	A-55, B-38
Libkind, D	O-6
Libonatti, C	B-5
Lima, MA	B-69
Liporace, F	O-1
Lirio, JM	B-80
Llorente, BE	A-65
Lo, T	A-52
Lobato, MC	A-58
Locatelli, D	B-3
Lodeiro, AR	A-53
Lombardo, D	A-38
Lopes, C	O-6
López, AM	A-54
López, DFE	B-46
López, EL	B-48
López, JL	B-80, B-81
Lopez, N	A-18, B-57
Lopez, NI	B-9
López, S	A-31
López Gaston, MM	A-57
López Guzmán, J	B-21
Lorda, G	O-8
Lovaisa, NC	B-10, B-19
Loviso, CL	O-15
Lozada, M	O-13, B-71, B-80
Lucentini, G	B-8
Ludueña, L	A-62
Luna, MF	A-56
Lundgren, L	O-13
Lutz, A	A-20

## **M**

Mac Cormack, WP	O-13, B-71, B-80, B-81
Macchi, M	B-43, B-75
Madueño, L	O-4, O-15

Magallanes Noguera, C	O-17
Magnoli, CE	A-26, B-56
Malter Terrada, M	A-31
Maltoni, KL	B-34
Marcos Valle, F	A-36
Marcos, MS	B-26
Marcos, MV	A-27
Marengo, L	A-10
Marioli, JM	A-3, A-4, A-8, A-10, A-11
Marion, F	B-24
Maroniche, GA	O-14, O-16, B-4, B-7, B-63
Marques, VO	B-23
Martín, M	A-15
Martina, P	B-58
Martínez Díaz, SF	B-79
Martínez Wassaf, M	B-33
Martínez Zamora, GM	B-19
Martínez, A	O-7
Martinez, JP	A-44
Martínez, M	B-18, B-24
Mary, VS	A-63
Masschessi, G	B-33
Matias, C	A-5
Mattos, N	A-68
Mayans, M	A-68
Medina, V	B-70
Medrano, NN	B-19
Meier, SF	B-25
Menendez, AB	A-59
Menendez, P	O-17
Mercado, EC	B-36
Mercado, L	A-9, B-59, B-60
Messuti, MI	B-14
Mestelan, S	B-38
Mestre, MC	B-27
Milde, LB	B-76
Miranda, V	A-43
Moguilevsky, D	B-25
Molina, R	O-24, A-70
Moliné, M	B-77
Mondino, EA	A-44
Mongiardini, E	A-71
Montecchia, MS	O-12, A-46
Monteleone, E	A-35
Monzón, L	A-70
Mora, VC	B-44
Morán, F	B-73
Morelli, IS	O-4, O-15, B-43, B-44, B-75
Moreno, D	A-40
Moreno, MV	B-64
Morgante, C	O-3
Mortalena, M	A-68

Muñoz, A	O-2
Muñoz, F	O-2
Murialdo, SE	B-39
Murray, AP	B-64

## **N**

Namtz, Y	A-57
Napolitano, N	O-13
Nates, S	B-33
Nesci, A	B-16
Niederhauser, M	A-38, A-39
Nieva, ASdel V	A-59
Nievas el Makte, ML	B-32
Nievas, FL	A-29, A-49
Nisenbaum, M	B-39
Novas, MV	A-33
Núñez, MA	B-20

## **O**

Obando, M	A-45
Oesterheld, M	A-61
Ojeda, FN	B-22
Ojeda, P	O-20
Oliva, MM	A-3, A-4, A-10, A-11
Olivera, NL	O-18, B-26, B-32, B-79
Omacini, M	A-51
Onco, M	O-19, A-21, A-22, A-23, B-57, B-62
Oneto, ME	O-4
Oppezzo, OJ	B-67
Orden, A	O-17
Ordoñez, O	B-66
Orlowski, J	B-72
Ormazabal, C	A-56
Ortiz, C	O-2
Ortiz, X	O-20
Osuna, A	A-19
Otaiza, SN	A-63
Ottado, J	B-45, B-53
Oyarzabal, M	A-61

## **P**

Pacini, V	B-45
Pagano, EA	B-70
Pagliero, F	O-8
Palacios, S	A-12
Palazzini, J	A-3
Paletti Rovey, MF	A-3, A-10, A-11
Palma, L	A-19, A-20
Panqueva ÁJH	B-46
Papalia, M	B-41
Pardini, FM	B-29
Passone, MA	A-17

Pastorino, G	B-8
Pattarino, L	B-61
Paulucci, NS	O-10
Pavan, J	B-33
Pedarros, A	O-19
Pedraza, RO	B-10, B-19
Pelizza, SA	A-24, A-64
Perdoménico, P	B-68
Pereyra, AM	B-37
Pereyra, MA	O-16, B-63
Pérez C	B-61
Pérez Giménez, J	A-53
Pérez, JJ	O-16, B-63
Pérez, M	O-19, A-21, A-22, A-23, B-57, B-62
Pérez, MF	O-21
Pérez-Brandan, C	O-22
Pérgola, M	B-28
Peris, D	O-6
Perticari, A	A-54, A-60, B-4, B-7, B-59
Petroselli, G	O-22
Pigoni, L	B-79
Piazza, A	B-45, B-53
Piccinetti, CF	A-60
Piccoli, P	O-9, A-40, A-41, B-54
Picone, L	A-36
Pisano, MB	B-33
Planes, E	O-3
Ponsone, ML	A-9
Porporatto, C	O-3
Portela, G	B-38
Portero, LR	B-66
Prez, V	B-33
Primo, E	A-4
Príncipe, A	A-13, B-73
Prosdócimo, F	O-20
Puente, ML	A-54
Puentes, CEA	B-46

## Q

Quelas, JI	A-71
Querejeta, G	B-6
Quevedo, C	O-1
Quezada, JM	A-54
Quillehauquy, V	A-58
Quiroga, C	O-13
Quiroga, MI	A-9

## R

Radice, M	B-41
Rajal, VB	O-11
Ramirex Torres, EK	A-29
Rastelli, SE	B-30, B-31

Ré, V	B-33
Recchi, M	B-50
Redes, J	A-54
Redondo, EA	B-36
Redondo, LM	B-36, B-37
Regeiro, DB	B-55
Reinoso, E	A-4
Restrepo F,GM	A-30
Revuelta, F	B-32
Reyes, MA	B-46
Ribaudo, CM	B-55
Rivera, D	O-24, A-45
Rivero, G	B-38
Rivero, ML	A-9
Rodríguez Bonnacarrere, P	O-17
Rodríguez Cáceres, EA	A-14
Rodríguez Giordano, S	O-17
Rodríguez Navas, A	A-9
Rodríguez Romera, M	A-9
Rodríguez, A	A-37
Rodríguez, M	B-65
Rodríguez, MA	A-52, B-50
Rodríguez, ME	O-6
Rodríguez, S	A-64
Rojo, R	A-15, A-34, A-69, B-24
Rollan, R	B-52
Romanelli, A	B-5, B-49
Romano-Armada, N	O-11
Romero, AM	A-46
Romero, ER	B-20, B-21
Rorig, M	A-37
Rosas, S	A-38, A-39
Rossi, L	B-6
Rossi, S	B-51
Rosso, LC	A-17
Rothen, C	A-52
Rubinstein, HR	A-63
Ruffinatto, L	A-8
Ruiz Ciancio, MG	A-42
Ruiz Gale, MF	B-67
Ruiz, OA	A-59
Russo, ML	A-24, A-64

## S

Sainz Rozas, HR	A-44
Salazar, SM	B-10, B-19, B-74
Salcedo, MF	B-17
Sales, JF	B-23
Salomón, MV	O-9, A-41, B-54
Salto, E	B-22
Salusso, F	A-17
Salvagiotti, F	A-34

Sanabria, J	B-65
Sánchez, ML	A-72
Sanguinetti, G	B-45
Sansinanea, A	B-5, B-49
Santana, JG	B-23
Santoro, VM	A-47, A-48
Santos, AA	B-34
Saparrat, M	A-15
Saraví Cisneros, H	B-26
Sardoy, P	B-70
Sauka, D	O-19, A-4, A-18, A-21, A-22, A-23, B-57, B-62
Sayago, P	A-12, B-52
Scambato, AA	A-33
Scandiani, M	A-69
Scervino, JM	B-14
Schmid, P	A-54
Scorsetti, AC	A-24, A-64
Scorza, MV	B-28
Scotta, R	A-20
Sepúlveda, MA	B-32
Sequeiros, C	O-18, B-79
Sierra, J	A-6
Silva, FG	B-23
Silva, MF	A-40
Silvani, VA	B-28
Silvestro, LB	B-64
Sjöling, S	O-13
Solans, M	B-14
Soria, M	B-70, B-72
Sorroche, F	A-49
Sosa, AL	A-17
Sosa, D	A-38, A-39
Sotello, J	A-3, A-10, A-11
Souchie, EL	B-11, B-13, B-23
Spatola Rossi, T	B-42
Statello, M	B-15, B-28
Stefanoni Rubio, PJ	A-33
Stenglein, SA	B-18, B-64
Stocco, A	B-47

## **T**

Taurian, T	A-42, A-62
Teixeira, KRS	B-10
Terada, C	O-4
Theumer, MG	A-63
Toffoli, LM	B-19
Torasso, M	A-13
Torres, D	A-71
Torres, JC	A-34
Torres, M	B-24
Torres, MJ	O-22
Tortora, ML	B-20, B-21

Tosi, M	O-12, A-69
Tropeano, G	A-35

## U

Urbietta, MS	B-69, B-78
--------------	------------

## V

Vaccaro, R	B-55
Valle Lisboa, S	B-58
Vay, CA	B-70
Vázquez, S	O-1, O-13, B-80
Velasco-Bucheli, R	B-64
Vera, L	B-21
Vero, S	B-61
Vianna, MF	A-24, A-64
Vidal, NC	O-4
Viera, MR	O-5, B-31, B-44
Vignolo, GM	B-74
Vignoni, PA	B-80
Vílchez, S	A-19
Villar Ramírez, NE	B-22
Vincent, PA	A-67
Vita, FA	A-14
Vizgarra, A	A-37
Vobis, G	B-14
Vogrig, JA	O-12, A-69
Vullo, DL	B-6

## W

Wall, L.G	B-14
Wassermann, E	A-46
Welter, A	B-33
Wilkens, M	O-2
Wolin, IAV	B-58
Wolski, EA	B-40

## Y

Yacobino, M	A-35
Yarte, ME	A-65
Yommi, A	A-58

## Z

Zaballa, IJ	B-55
Zabaloy, MC	A-32
Zannier, F	B-66
Zapiola, JM	A-7
Zavala, JA	B-70
Zawoznik, MS	O-23
Zorreguieta, A	A-49
Zubreski, E	B-76