

Libro de resúmenes
Programa



XXV Reunión Latinoamericana de Rizobiología

I Congreso Nacional de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal

50 años de investigación en inoculantes como
estrategia de desarrollo sostenible (1960-2011)

Piriápolis, Maldonado, Uruguay,
Setiembre 4 al 9, 2011

www.alaronline.org



XXV Reunión Latinoamericana de Rizobiología
I Congreso Nacional de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal

50 años de investigación en inoculantes como estrategia de desarrollo sostenible (1960-2011)

Piriápolis, Maldonado, Uruguay, Setiembre 4 al 9, 2011





PRÓLOGO

La Asociación Latinoamericana de Rizobiología (ALAR) es una asociación científica sin fines de lucro cuyo objetivo es promover las actividades de fijación biológica de nitrógeno y uso de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal en los países de América Latina y Caribe.

Una de sus principales actividades ha sido la coordinación de las Reuniones Latinoamericanas de Rizobiología (RELAR) para mantener un ámbito de actualización e intercambio de experiencias y conocimientos de los aspectos básicos y aplicados del uso de esta tecnología. La RELAR se ha transformado en un foro internacional significativo y en una excelente oportunidad para jóvenes investigadores.

Los orígenes de ALAR se remontan a la década del 60, su fundación ocurre en 1964 en la I RELAR en Montevideo, Uruguay y se formaliza en la X RELAR en Maracay, Venezuela, en 1980.

En el 2009 se realizó la primera reunión conjunta ALAR-SEFIN (Sociedad Española de Fijación Biológica del Nitrógeno), con la convocatoria a la XXIV RELAR y I IBEMPA (Conferencia Iberoamericana de interacciones beneficiosas microorganismo-planta-ambiente), lo que representó un significativo avance en los objetivos de ambas sociedades. Estas reuniones conjuntas se reiterarán cada 4 años.

La estructura organizativa esta formada por una Secretaría Ejecutiva con sede en Montevideo, Uruguay y un Presidente y Vice-Presidente que alternan en función de las RELAR.

Las actividades han sido financiadas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) hasta 1994 y el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP), Uruguay hasta 2006. Desde el año 2000 se cuenta con el apoyo de la empresa BIAGRO.

La XXV RELAR y I Congreso Nacional de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal (I MIPCV) se realiza en Piriápolis, Maldonado, Uruguay, del 4 al 9 de Setiembre de 2011. Se pretende que esta reunión brinde un ámbito de intercambio de conocimientos, experiencias y resultados científicos en un espacio reflexivo, profundo, orientado a la discusión y actualización de aspectos básicos y aplicados de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal.

El programa se desarrolla en base a áreas temáticas con participación de conferencistas invitados y presentaciones orales de trabajos seleccionados con un amplio espacio para la presentación de posters. La actividad estuvo a cargo de un amplio comité científico integrado por técnicos nacionales y extranjeros.

El programa se iniciará con una conferencia de apertura a cargo del Ing. Agr. Tabaré Aguerre, Ministro de Ganadería, Agricultura y Pesca, MGAP- Uruguay sobre políticas de sostenibilidad para el sector agropecuario y culminará con una conferencia de clausura a cargo de la Dra. Mariángela Hungria de Brasil sobre la visión futura del uso de los microorganismos benéficos en la agricultura.

En la oportunidad tendrá lugar la reunión anual de coordinación de la Red CYTED-BIOFAG (Red Iberoamericana de Fertilizantes Biológicos para la Agricultura y el Medio Ambiente), un taller sobre microorganismos promotores co-financiado por la Red y el III taller uruguayo de agentes microbianos de control biológico (III Taller AMCB).

Está confirmada la 5ª edición de los premios BIAGRO "Bernardo Leicach" para los primeros y segundos premios de trabajos en investigación básica y aplicada por un monto de US\$ 2000 y US\$ 1500 respectivamente, de acuerdo a la selección realizada por un comité científico.

Asimismo, la Comisión Organizadora brindará reconocimiento a personalidades nacionales y extranjeras por su trayectoria en el tema.

En la oportunidad se pondrá a consideración la confirmación de las sedes para la XXVI RELAR Y II IBEMPA, España 2013, y la XXVII RELAR- Londrina, Brasil, 2015 y sede alternativa.

La ALAR y el Comité organizador desean éxito a los participantes y una buena estadía y agradecen a todos aquellos que colaboraron en la realización de este evento.

Carlos Labandera
ALAR- Secretaría Ejecutiva

Alicia Arias
Presidenta Cté. Organizador



COMITÉ ORGANIZADOR

Carlos Labandera, ALAR- Secretaría ejecutiva, Uruguay
Alicia Arias, Presidenta ALAR 2009-2011, Uruguay
Eduardo Ortega, Vice-Presidente ALAR, Cuba
Federico Battistoni, Secretario, Uruguay
Natalia Bajsa, Tesorera, Uruguay

COMITÉ CIENTÍFICO NACIONAL

Altier, Nora; Arias, Alicia; Batista, Silvia; Bettucci, Lina; Beyhaut, Elena; Borsani, Omar;
Castro, Susana; Fabiano, Elena; Fernández, Ana; Mayans, María;
Monza, Jorge, Pezzani, Fabiana; Rivas, Federico; Russell, Horacio

COMITÉ CIENTÍFICO INTERNACIONAL

Argentina

Aguilar, Mario; Cassan, Fabricio; Dardanelli, Marta; Lagares, Antonio;
Perticari, Alejandro; Racca, Roberto

Brasil

de Souza, Emanuel; Hungria, Mariangela; Moreira, Fatima;
Olivares, Fabio; Reis, Veronica

Colombia

Moreno, Nubia

España

Bedmar, Eulogio J.; Megías, Manuel;
Ruiz, José Enrique; Sanjuan, Juan

Israel

Okon, Yaacov

Mexico

Martínez, Esperanza

Perú

Zúñiga, Doris

Portugal

Videira e Castro, Isabel

USA

De La Fuente, Leonardo

AUSPICIANTES

Declarado de Interés Nacional por el
Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP)

Declarado de Interés Ministerial por el
Ministerio de Educación y Cultura (MEC)

Declarado de Interés Académico por:

Facultad de Agronomía – UDELAR

Facultad de Ciencias – UDELAR

Facultad de Química – UDELAR

Facultad de Ciencias Agrarias – UDE

Declarado de Interés Institucional por:

Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable" (IIBCE)

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)

Instituto Nacional de Semillas (INASE)

PATROCINANTES

Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) - Uruguay

AgResearch - Nueva Zelanda

Barenbrug – Palaversich - Argentina

Biagro S.A. - Argentina

Calister - Uruguay

Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) - Uruguay

Fertiprado - Uruguay

INIA - Uruguay

Lafoner S.A. - Uruguay

Lage y Cía. S.A. - Uruguay

Proyecto Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR)

Red CYTED - BIOFAG

Rizobacter S.A. - Argentina

Sociedad Uruguaya de Fitopatología (SUFIT)

Stoller - Brasil

Wrightson Pas - Uruguay

Domingo 4	Lunes 5	Martes 6
	08:00 a 18:00 Acreditaciones	
08:30 a 19:00 Acreditaciones	08:30 a 09:00 Taller BIOFAG <i>Coordinadores: Juan Sanjuán - Carlos Labandera</i> Apertura	09:00 a 09:50 XXV RELAR y I MIPCV <i>Coordinadores: Elena Beyhaut - Horacio Russell</i> <i>Conferencistas: Graham O'Hara (Australia) - David Herridge (Australia)</i> Área Temática 1: Los microorganismos y la agricultura sustentable.
09:20 a 09:30 III Taller AMCB Bienvenida y Apertura	09:00 a 09:30 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Natalia Martínez (Uruguay)</i> ADAPTACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN SISTEMA PARA LA EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL DE LAS ACTIVIDADES RURALES – E.I.A.R.	09:50 a 10:30 XXV RELAR y I MIPCV Presentaciones orales AT1
09:30 a 10:15 III Taller AMCB <i>Conferencista: Trevor Jackson (Nueva Zelanda)</i> DEVELOPMENT AND USE OF MICROBIAL AGENTS FOR BIOLOGICAL CONTROL OF INSECT PESTS	09:30 a 09:55 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Roberto Diaz (Uruguay)</i> IMPORTANCIA DE LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DEL NITRÓGENO EN LA RESTAURACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS Y SU IMPACTO EN LA PRODUCTIVIDAD Y SOSTENIBILIDAD	10:30 a 11:00 Pausa
10:15 a 11:00 III Taller AMCB <i>Conferencista: Wagner Bettiol (Brasil)</i> DESARROLLO Y USO DE AGENTES MICROBIANOS PARA CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES	09:55 a 10:20 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Roberto W. Racca (Argentina)</i> IMPORTANCIA DE LA FBN EN EL CULTIVO DE SOJA Y PRINCIPALES FACTORES AMBIENTALES QUE LA CONDICIONAN.	11:00 a 13:00 XXV RELAR y I MIPCV Sesión de posters AT1
11:00 a 11:15 Pausa	10:20 a 10:45 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Mónica Rebuffo (Uruguay)</i> IMPACTO DE LA FBN DE LAS LEGUMINOSAS FORRAJERAS EN LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE URUGUAY	
11:15 a 12:00 III Taller AMCB <i>Conferencista: Corrêa Marques de Mello Sueli (Brasil)</i> GESTÃO DE COLEÇÕES DE CULTURAS MICROBIANAS: PAPEL NA CONSERVAÇÃO, USO SUSTENTÁVEL DOS RECURSOS E CONTROLE DE QUALIDADE	10:45 a 11:00 Pausa	
12:00 a 12:30 III Taller AMCB Sesión de posters	11:00 a 11:25 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Emiliano Ferreira (Uruguay)</i> BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO EN EL CULTIVO DE ARROZ.	13:00 a 14:30 Almuerzo
12:30 a 14:00 Almuerzo Almuerzo	11:25 a 11:50 Taller BIOFAG Microorganismos promotores del crecimiento vegetal. Maíz	
14:00 a 14:30 III Taller AMCB Continuación Sesión de posters	11:50 a 12:15 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Verónica Massena Reis (Brasil)</i> IMPORTANCIA DO USO DE INOCULANTES PARA CULTURAS DE INTERESSE AGRÍCOLA: EXEMPLO DO DESENVOLVIMENTO DO INOCULANTE PARA APLICAÇÃO EM CANA DE AÇÚCAR	14:30 a 15:20 XXV RELAR y I MIPCV <i>Coordinadores: María Mayans - Federico Rivas</i> <i>Conferencistas: Rubens Buschmann Jr. (Brasil) - Dulce Nombre Rodriguez Navarro (España)</i> Área Temática 2: Producción y uso de inoculantes
14:30 a 14:45 III Taller AMCB <i>Expositor: Fanny da Rosa (Uruguay)</i> Registro de AMCB en Uruguay	12:15 a 12:40 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Nicolás Medina (Cuba)</i> LA BIOFERTILIZACIÓN CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (HMA) COMO ALTERNATIVA SOSTENIBLE PARA LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA EN CUBA	15:20 a 16:00 XXV RELAR y I MIPCV Presentaciones orales AT2
14:45 a 15:45 III Taller AMCB <i>Moderador: Andrés France (Chile)</i> Taller (1) Oportunidades y limitantes de uso de AMCB de insectos-plaga	12:40 a 14:00 Almuerzo	
15:45 a 16:45 III Taller AMCB <i>Moderador: Pedro Mondino (Uruguay)</i> Taller (2) Oportunidades y limitantes de uso de AMCB de enfermedades	14:00 a 14:25 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Eliane Bangel (Brasil)</i> MARCO LEGAL PARA INOCULANTES: IMPORTANCIA NA ADOÇÃO DO INSUMO	16:00 a 16:30 Pausa
16:45 a 17:00 Pausa	14:25 a 14:50 Taller BIOFAG <i>Conferencistas: Fabricio Cassán - Fernanda Gonzalez Fiqueni (Argentina)</i> REDCAI: LA EXPERIENCIA ARGENTINA EN EL DESARROLLO DE UNA RED DE CONTROL DE CALIDAD DE INOCULANTES.	16:30 a 18:30 XXV RELAR y I MIPCV Sesión de posters AT2
17:00 a 17:20 III Taller AMCB <i>Expositor: Ana María Maquieira (Uruguay)</i> Colecciones de cultivos microbianos: iniciativa LATU <i>Expositor: Mercedes Peyrou (Uruguay)</i> Colecciones de cultivos microbianos: iniciativa SUIFT	14:50 a 15:50 Taller BIOFAG <i>Conferencista: Solon C. de Araujo 1 (Brasil)</i> FUTURO DOS MICROORGANISMOS NA AGRICULTURA – PONTO DE VISTA DAS EMPRESAS DE INOCULANTES.	
17:20 a 18:20 III Taller AMCB <i>Moderador: Lylíam Loperena (Uruguay)</i> Taller (3) Colecciones: Gestión, conservación, control de calidad	<i>Conferencista: Enrique Malcuori (Uruguay)</i> IMPORTANCIA DE LA FIJACIÓN DEL NITRÓGENO EN LA LECHERIA. <i>Conferencista: Alejandro Peticari (Argentina)</i> FUTURO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA AGRICULTURA. VISIÓN DESDE LA INVESTIGACIÓN.	
18:20 a 19:00 III Taller AMCB Plenaria y conclusiones	15:50 a 16:30 Taller BIOFAG <i>Moderador: Nubia C. Moreno (Colombia)</i> Resumen y conclusiones	
	16:30 a 17:00 Taller BIOFAG Clausura	
	18:00 a 19:00 XXV RELAR y I MIPCV Apertura oficial	
	19:00 a 19:30 XXV RELAR y I MIPCV <i>Conferencista: Tabaré Aguerre (Uruguay)</i> Conferencia de apertura	18:30 a 19:30 XXV RELAR y I MIPCV Conferencia invitada <i>Conferencista: Manuel Megías (España)</i> LAS EMPRESAS SPIN-OFF COMO HERRAMIENTA PARA LA TRANSFERENCIA DEL CONOCIMIENTO
	19:30 a 20:20 XXV RELAR y I MIPCV Panel y plenario	
	20:30 XXV RELAR y I MIPCV Cocktail de Bienvenida	

Miércoles 7

Jueves 8

Viernes 9

09:00 a 09:50 XXV RELAR y I MIPCV <i>Coordinadores: Nora Altier - Alicia Arias</i> <i>Conferencistas: Fabricio Cassán (Argentina) - Claudio Valverde (Argentina)</i> Área Temática 3: Mecanismos de PCV por microorganismos	09:00 a 09:50 XXV RELAR y I MIPCV <i>Coordinadores: Susana Castro - Elena Fabiano</i> <i>Conferencistas: Gustavo Caetano (Estados Unidos) - Susana Castro-Sowinski (Uruguay)</i> Área Temática 5: Genómica y proteómica de microorganismos PCV	09:00 a 09:50 XXV RELAR y I MIPCV <i>Coordinadores: Omar Borsari - Fabiana Pezzani</i> <i>Conferencistas: Fabio Olivares (Brasil) - Fabiana Pezzani (Uruguay)</i> Área Temática 7: Interacción planta - microorganismo
09:50 a 10:30 XXV RELAR y I MIPCV Presentaciones orales AT3	09:50 a 10:30 XXV RELAR y I MIPCV Presentaciones orales AT5	09:50 a 10:30 XXV RELAR y I MIPCV Presentaciones orales AT7
10:30 a 11:00 Pausa	10:30 a 11:00 Pausa	10:30 a 11:00 Pausa
11:00 a 13:00 XXV RELAR y I MIPCV Sesión de posters AT3	11:00 a 11:30 XXV RELAR y I MIPCV Conferencia invitada <i>Conferencista: J.J. Drevon (Francia)</i> PARTICIPATORY ASSESSMENT OF PHOSPHORUS BIO-AVAILABILITY IN LEGUME RHIZOSPHERE WITH RECOMBINANT INBRED LINES OF COMMON-BEAN CONTRASTING IN PHOSPHORUS USE EFFICIENCY FOR NITROGEN FIXATION 11:30 a 13:00 XXV RELAR y I MIPCV Reunión ALAR	11:00 a 13:00 XXV RELAR y I MIPCV Sesión de posters AT7
13:00 a 14:30 Almuerzo	13:00 a 14:30 Almuerzo	13:00 a 14:30 Almuerzo
14:30 a 15:20 XXV RELAR y I MIPCV <i>Coordinadores: Silvia Batista - Antonio Lagares</i> <i>Conferencistas: Anibal Lodeiro (Argentina) - Mariano Pistorio (Argentina)</i> Área Temática 4: Fisiología de bacterias PCV	14:30 a 15:20 XXV RELAR y I MIPCV <i>Coordinadores: Lina Bettucci - Ana Fernandez</i> <i>Conferencistas: Fatima Moreira (Brasil) - Sidney Luiz Sturmer (Brasil)</i> Área Temática 6: Taxonomía, biodiversidad y ecología de microorganismos PCV	14:30 a 15:00 XXV RELAR y I MIPCV Conferencia de Clausura <i>Conferencista: Mariangela Hungria (Brasil)</i> OS MICROORGANISMOS COMO FERRAMENTA DO DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL INTERNACIONAL
15:20 a 16:00 XXV RELAR y I MIPCV Presentaciones orales AT4	15:20 a 16:00 XXV RELAR y I MIPCV Presentaciones orales AT6	15:00 a 15:50 XXV RELAR y I MIPCV Panel y plenario
16:00 a 16:30 Pausa	16:00 a 16:30 Pausa Pausa	15:50 a 16:30 XXV RELAR y I MIPCV Conclusiones y recomendaciones
16:30 a 18:30 XXV RELAR y I MIPCV Sesión de posters AT4 y AT5	16:30 a 18:30 Posters Sesión de posters AT6	16:30 a 17:30 XXV RELAR y I MIPCV Ceremonia oficial de clausura y entrega de premios
18:30 a 19:30 XXV RELAR y I MIPCV Conferencia invitada <i>Conferencista: Yaacov Okon (Israel)</i> PLANT GROWTH PROMOTION BY RHIZOSPHERE BACTERIA THROUGH DIRECT EFFECTS: MECHANISMS AND AGRONOMICAL USE.		

20:00 | XXV RELAR y I MIPCV
Cena de Clausura

PROGRAMA

Domingo 4

III TALLER URUGUAYO DE AGENTES MICROBIANOS DE CONTROL BIOLÓGICO (AMCB)

08:30-19:00	Acreditaciones
09:20-09:30	Bienvenida y Apertura <i>Q.F. Alicia Arias, Presidenta Comité Organizador, IIBCE</i> <i>Dra. Nora Altier, INIA</i>
09:30-10:15	Desarrollo y uso de AM para CB de insectos plaga <i>Dr. Trevor Jackson</i> <i>AgResearch, Nueva Zelanda</i>
10:15-11:00	Desarrollo y uso de AM para CB de enfermedades <i>Dr. Wagner Bettiol</i> <i>EMBRAPA Medio Ambiente, Brasil</i>
11:00-11:15	Pausa
11:15-12:00	Gestión de las colecciones de cultivos microbianos: rol en la conservación y uso sustentable del recurso <i>Dra. Sueli Correa Marques de Mello</i> <i>EMBRAPA-CENARGEN, Brasil</i>
12:00-12:30	Presentación de posters
12:30-14:00	Almuerzo
14:00-14:30	Presentación de posters
14:30-14:45	Registro de AMCB en Uruguay <i>Ing. Agr. Fanny da Rosa, DGSA/MGAP Uruguay</i>
14:45-15:45	Taller (1) Oportunidades y limitantes de uso de AMCB de insectos-plaga <i>Moderador: Dr. Andrés France, INIA Chile</i>
15:45-16:45	Taller (2) Oportunidades y limitantes de uso de AMCB de enfermedades <i>Moderador: Dr. Pedro Mondino, Fac. Agronomía UDELAR Uruguay</i>
16:45-17:00	Pausa
17:00-17:20	Colecciones de cultivos microbianos: iniciativa LATU <i>Dra. Ana María Maquieira, LATU Uruguay</i>
	Colecciones de cultivos microbianos: iniciativa SUFIT <i>Mag. Mercedes Peyrou, IIBCE Uruguay</i>
17:20 - 18:20	Taller (3) Colecciones: Gestión, conservación, control de calidad <i>Moderadora: Dra. Lylam Loperena, Fac. Ingeniería UDELAR Uruguay</i>
18:20-19:00	Plenaria y conclusiones

Lunes 5

08:00-18:00 **Acreditaciones**

TALLER RED BIOFAG "MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL, SOSTENIBILIDAD Y MEDIO AMBIENTE".

08:30-09:00	Apertura <i>Dr. Juan Sanjuán, Coordinador de la Red Biofag.</i> <i>Ing. Agr. Carlos Labandera, Coordinador nacional.</i>
09:05-09:30	Metodologías de evaluación de la sostenibilidad: aspectos productivos, sociales, sanitarios y medioambientales. <i>Natalia Martínez, Proyecto de Producción Responsable, MGAP, Uruguay.</i>
09:30-09:55	Importancia de la fijación biológica del nitrógeno en la restauración de carbono en los suelos y su impacto en la productividad y sostenibilidad. <i>Roberto Díaz, INIA, Uruguay.</i>
09:55-10:20	Fijación biológica del nitrógeno en el cultivo de soja y principales factores ambientales que la condicionan. <i>Roberto W. Racca INTA-CONICET, Argentina.</i>
10:20-10:45	Impacto de la FBN de las leguminosas forrajeras en los sistemas productivos de Uruguay. <i>Mónica Rebuffo, INIA, Uruguay</i>
10:45-11:00	Pausa
11:00-11:25	Bacterias promotoras del crecimiento en el cultivo de arroz. <i>Emiliano Ferreira, Uruguay.</i>
11:25-11:50	Microorganismos promotores del crecimiento vegetal. Maíz.
11:50-12:15	Desarrollo de inoculantes para caña de azúcar. Micorrizas. <i>Verónica Massena Reis, EMBRAPA-Agrobiología, Brasil</i>
12:15-12:40	Microorganismos promotores del crecimiento vegetal. <i>Nicolás Medina, INCA, Cuba.</i>
12:40-14:00	Almuerzo
14:00-14:25	Marco legal para inoculantes: importancia en la adopción del insumo. <i>Eliane Bangel, FEPAGRO, Brasil.</i>

14:25-14:50 **Actualización de metodologías y protocolos de control de calidad de inoculantes.**

Fabrizio Cassán- Fernanda Gonzalez Fiqueni, REDCAI, AAM, Argentina.

14:50-15:50 **Futuro de los microorganismos en la agricultura**

14:50-15:10 **Visión desde la investigación.**

Alejandro Perticari. INTA-IMIZA, CNIA-Castelar, Buenos Aires. Argentina.

15:10-15:30 **Visión desde la empresa de inoculantes.**

Solon C. de Araujo, ANPII, Brasil

15:30-15:50 **Visión desde el sector productivo.**

Enrique Malcuori, Conaprole, Uruguay.

15:50-16:30 **Resumen y conclusiones.**

Nubia C. Moreno, UNC, Colombia.

16:30 **Clausura**

XXV RELAR y I MIPCV

18:00 a 19:00 **Apertura oficial**

Palabras de:

Tabaré Aguerre, Ministro de Ganadería, Agricultura y Pesca, MGAP (Uruguay);

Carlos Labandera, ALAR;

Alicia Arias, Presidenta Comité Organizador (Uruguay);

Eduardo Ortega, Vice-Presidente Comité Organizador (Cuba);

Manuel Megías, SEFIN (España);

Juan Sanjuan, Red BIOFAG/CYTED.

Reconocimientos a:

Aníbal Álvarez (Uruguay), Lillian Frioni (Uruguay), Gloria Martínez (Uruguay), Yaacov Okon (Israel), Enrique Rodríguez Cáceres (Argentina).

Post-mortem: Jesús Caballero Mellado (Mexico), Peter Graham (Australia).

19:00 a 19:30 **Conferencia de apertura**

"Sostenibilidad y desarrollo agropecuario en Uruguay- rol de los microorganismos benéficos"

Ing. Agr. Tabaré Aguerre, Ministro de Ganadería, Agricultura y Pesca, MGAP- Uruguay

19:30-20:20 **Panel y plenario**

20:30 **Cocktail de bienvenida**

Martes 6

AT1- Los microorganismos y la agricultura sustentable

09:00 – 09:25 *Graham O'Hara (Australia)*

"Biological Nitrogen Fixation and sustainability in the southern hemisphere"

09:25 – 09:50 *David Herridge (Australia)*

"Nitrogen-fixing chickpea underpin productive, sustainable farming systems in Australia's northern grains region"

09:50 – 10:30 **Presentaciones orales:**

Edgardo Jofré (Argentina)

"The plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP218 and ARP23 capable to produce cyclic lipopeptides are effective in biocontrol of fungal soybean diseases".

Marcos de Luca (Argentina)

"Nodulação e qualidade dos grãos de soja em diferentes densidades de plantio".

Diana Costa (Uruguay)

"Diversidad de micorrizas arbusculares y bacterias promotoras del crecimiento en portainjertos de vid para optimizar el prendimiento en la fase de vivero".

10:30 – 11:00 **Pausa**

11:00 – 13:00 **Sesión de posters AT1**

13:00 – 14:30 **Almuerzo**

AT2 - Producción y uso de inoculantes

14:30 – 14:55 *Rubens Carlos Buschmann (Brasil)*

"Perspectivas para o mercado de inoculantes no Brasil"

14:55 – 15:20 *Dulce Navarro (España)*

"Producción y evaluación de inoculantes para leguminosas en España"

15:20 – 16:00 **Presentaciones orales:**

Gastón Rariz (Uruguay)

"Competencia entre *Azospirillum brasilense* y bacterias endófitas nativas de semilla de arroz".

Susana Carletti (Argentina)

"Evaluación de los efectos de la aplicación de formulados fungicidas a base de Carbendazim + Thiram sobre la cepa E109 de *Bradyrhizobium japonicum*".

Susana Rosas (Argentina)

"The contribution of *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* SR1 in improving crop productivity. Molecular mechanisms involved in healthy".

16:00 – 16:30 Pausa

16:30 – 18:30 Sesión de posters AT2

18:30 – 19:30 Conferencia invitada

"Las empresas spin-off como herramienta para la transferencia del conocimiento"
Dr. Manuel Megias (España)

Miércoles 7

AT3 - Mecanismos de promoción del crecimiento vegetal

09:00 – 09:25 *Claudio Valverde (Argentina)*

"Mechanisms in biological control of plant pathogens by rhizobacteria"

09:25 – 09:50 *Fabrizio Cassan (Argentina)*

"Promoción del crecimiento vegetal: una mirada básica y tecnológica de la producción bacteriana de fitohormonas y otros mecanismos de regulación"

09:50 – 10:30 Presentaciones orales:

Nadía Riera (Uruguay)

"Purificación y caracterización de un péptido con actividad antifúngica producido por la cepa *Pseudomonas fluorescens* CFBP2392".

María Laura Tonelli (Argentina)

"Evaluación de la inducción de resistencia sistémica por una rizobacteria nativa, como estrategia para la protección contra fitopatógenos fúngicos de maní".

Nicolás Medina (Cuba)

"Respuesta del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) sometido a estrés salino a la micorrización. 1. Indicadores nutricionales"

10:30 – 11:00 Pausa

11:00 – 13:00 Sesión de posters AT3

13:00 – 14:30 Almuerzo

AT4 - Fisiología de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal

14:30 – 14:55 *Mariano Pistorio (Argentina)*

"Caracterización genómica y funcional de *Rhizobium* sp. LPU83, una bacteria modelo para estudiar la evolución de los rizobios noduladores de alfalfa"

14:55 – 15:20 *Aníbal Lodeiro (Argentina)*

"Influencia de la movilidad de *Bradyrhizobium japonicum* en la competición para la nodulación de soja"

15:20 – 16:00 Presentaciones orales:

Cecilia Creus (Argentina)

"Crecimiento de *A. brasilense* en condiciones estáticas: rol del NO durante la formación del biofilm".

Raul Platero (España)

"In vivo and in vitro analysis of the nitrogen-related PTS of the soil bacterium *Pseudomonas putida* KT2440".

Ernesto Ormeño (México)

"Tolerancia y posible degradación de fenantreno por *Rhizobium tropici* CIAT 899 en vida libre".

16:00 – 16:30 Pausa

16:30 – 18:30 Sesión de posters AT4 y AT5

18:30 - 19:30 Conferencia invitada

"Mecanismos y potencial de uso de *Azospirillum* y otros PGPR de acción directa"
Dr. Yaacov Okon (Israel)

Jueves 8

AT5 - Genómica y proteómica de microorganismos promotores del crecimiento vegetal

09:00 – 09:25 *Gustavo Caetano (EUA)*

"Structural phylogenomics and the evolution of proteins and proteomes"

09:25 – 09:50 *Susana Castro-Sowinski (Uruguay)*

"El fenómeno de variación de fases en bacterias rizosféricas"

09:50 – 10:30 Presentaciones orales:

Federico Rosconi (Uruguay)

"Sistemas de captación de hierro mediados por sideróforos en el endófito de gramíneas *Herbaspirillum seropedicae* Z67".

Jesiane Batista (Brasil)

"Genistein-induction effects in protein expression of *Bradyrhizobium japonicum* strains".

Emanuel de Souza (Brasil)

"Whole transcriptome profile of *Herbaspirillum seropedicae* grown in the presence of naringenin".

10.30 – 11.00 Pausa

11:00 – 11:30 Conferencia invitada

"Participatory assessment of phosphorus bio-availability in legume rhizosphere with recombinant inbred lines of common-bean contrasting in phosphorus use efficiency for nitrogen fixation"

Dr. J.J. Drevon (Francia)

11:30 – 13:00 Reunión ALAR.

13:00 – 14:30 Almuerzo

AT6 - Taxonomía, biodiversidad y ecología de microorganismos promotores del crecimiento vegetal

14:30 – 14:55 *Fátima Moreira (Brasil)*

"Diversidade, ecologia e eficiência de bactérias promotoras de crescimento vegetal"

14:55 – 15:20 *Sidney Sturmer (Brasil)*

"Diversidade de fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) em ecossistemas agrícolas e naturais"

15:20 – 16:00 Presentaciones orales:

Máximo Sánchez (Uruguay)

"Caracterización de una cepa de *Phyllobacterium* sp. aislada de nódulos *Lotus corniculatus*".

Jorge Angelini (Argentina)

"Efecto de la aplicación de agroquímicos sobre la abundancia y diversidad de microorganismos diazotrofos en el área manisera de Córdoba"

Lina Rivera (España)

"Identificación rápida mediante Maldi-TOF-MS de bacterias que nodulan *Trifolium repens*".

16:00 – 16:30 Pausa

16:30 – 18:30 Sesión de posters AT6

20.00 Cena de clausura

Viernes 9

AT7- Interacción planta-microorganismo-ambiente

09:00 – 09:25 *Fabio Olivares (Brasil)*

"Structural interaction between endophytic diazotrophic bacteria and graminaceous plants revisited throughout functional genomics era"

09:25 – 09:50 *Fabiana Pezzani (Uruguay)*

"Avances en la investigación sobre micorrizas arbusculares en Uruguay"

09:50 – 10:30 Presentaciones orales:

Maria Morel (Uruguay)

"Descifrando la dinámica de la interacción microorganismo-planta".

Ana Furlan (Argentina)

"Producción de especies reactivas del oxígeno e inducción del sistema antioxidante en respuesta al estrés hídrico y rehidratación en la asociación simbiótica *Bradyrhizobium* sp.-maní".

Lina Rivera (España)

"La sobreexpresión de la endoglucanasa (CelC2) en *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* E11, aumenta su capacidad de colonización, infección e incrementa la producción de semillas de arroz (*Oryza sativa*)".

10.30 – 11.00 Pausa

11:00 – 13:00 Sesión de posters AT7

13:00 – 14:30 Almuerzo

14:30 – 15:00 Conferencia de clausura

"Los microorganismos como herramienta de desarrollo sostenible: visión internacional, seguridades y desafíos"

Dra. Mariangela Hungria (Brasil)

15:00 – 15:50 Panel y plenario

15:50 – 16:30 Conclusiones y recomendaciones

16:30 – 17:30 Ceremonia oficial de clausura y entrega de premios



XXV Reunión Latinoamericana de Rizobiología
I Congreso Nacional de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal

50 años de investigación en inoculantes como estrategia de desarrollo sostenible (1960-2011)

Piriápolis, Maldonado, Uruguay, Setiembre 4 al 9, 2011





III Taller Uruguayo de Agentes Microbianos de Control Biológico

4 de setiembre de 2011

III Taller Uruguayo de Agentes Microbianos de Control Biológico

4 de setiembre de 2011



PRÓLOGO

El Primer Taller Uruguayo de Agentes Microbianos de Control Biológico (AMCB), realizado en Colonia los días 21 y 22 de marzo de 2006, permitió sentar las bases de la situación actual de Uruguay en la temática, así como evidenciar las necesidades para que el control biológico pueda posicionarse como área estratégica en el manejo de las principales enfermedades y plagas agrícolas en el país.

El Segundo Taller Uruguayo de Agentes Microbianos de Control Biológico (AMCB), realizado en Colonia los días 4 y 5 de setiembre de 2008, se focalizó en analizar y discutir los avances logrados en la prospección, evaluación y eficiencia de control de agentes microbianos para el control de enfermedades e insectos, con énfasis en los aspectos de formulación, escalado y producción de los AMCB. Asimismo, se desarrolló una discusión sobre "Marco Normativo y Comercialización", con la participación de destacados investigadores de la región (Brasil, Argentina, Chile) y de países con modelos exitosos (Colombia, Cuba, Israel, Nueva Zelanda), cuyas conclusiones levantan la relevancia de fomentar la integración regional/internacional de los grupos trabajando en el tema de control biológico.

Esta tercera edición del evento tiene como objetivo abordar la temática "*Uso y perspectivas de los AMCB en sistemas de producción sustentables*". Se discutirán aspectos de desarrollo y uso de agentes microbianos para el control biológico de insectos plaga y de enfermedades vegetales, así como la importancia de la gestión de las colecciones de cultivos microbianos y su rol en la conservación y uso sustentable del recurso.

El taller se realiza al comienzo de la vigésimo quinta Reunión Latinoamericana de Rizobiología (XXV RELAR), "50 años de investigación en inoculantes como estrategia de desarrollo sostenible: 1960-2011", tornándose una ocasión inmejorable para reunir investigadores de la región y sumar capacidades en el área de los RRGG microbianos. Se considera la oportunidad para afianzar alianzas estratégicas y explorar proyectos cooperativos para la valorización, conservación y uso sustentable de dichos recursos.

La organización del evento ha sido responsabilidad del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), la Universidad de la República (UDELAR) y el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), contando con el apoyo del Proyecto Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR), la Sociedad Uruguaya de Fitopatología (SUFIT) y AgResearch (Nueva Zelanda).

COMITÉ ORGANIZADOR

Nora Altier (INIA Las Brujas)

Alicia Arias (IIBCE)

Natalia Bajsa (IIBCE)

Enrique Castiglioni (CURE, UDELAR)

Lylíam Loperena (Facultad de Ingeniería, UDELAR)

Sandra Lupo (Facultad de Ciencias, UDELAR)

Pedro Mondino (Facultad de Agronomía, UDELAR)

Silvia Pereyra (INIA La Estanzuela)

Carlos Pérez (Facultad de Agronomía, UDELAR)

Federico Rivas (INIA Las Brujas)

Silvana Vero (Facultad de Química, UDELAR)

María Lis Yanes (IIBCE)

Domingo 4

08:30 a 19:00

Acreditaciones

09:20 a 09:30

III Taller AMCB

Bienvenida y Apertura

09:30 a 11:00

III Taller AMCB

III Taller de Agentes Microbianos de Control Biológico

TCB_001 DESARROLLO Y USO DE AGENTES MICROBIANOS PARA CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES

Bettiol, Wagner¹

¹ Embrapa Meio Ambiente (Brasil)
bettiol@cnpma.embrapa.br

El control biológico de enfermedades de plantas está siendo investigado y desarrollado tanto por instituciones de investigación pública como por empresas privadas. Esto se debe al crecimiento del mercado y sobre todo, a la perspectiva de ocupar en corto plazo, espacios que hoy ocupan los pesticidas químicos y alcanzar así, una cuota significativa de ese mercado. Actualmente la participación de productos biológicos se ubica en el entorno del 1,2% del mercado latinoamericano y se espera que alcance el 15-20% en los próximos 20 años. Por lo tanto, existe la necesidad tanto de desarrollar nuevos productos con las especies de antagonistas ya conocidas como de seleccionar nuevos agentes de biocontrol. Si bien existe una gran diversidad microbiana y en ella fácilmente se encuentran antagonistas de los fitopatógenos, para que un antagonista llegue a la etapa comercial debe de cumplir ciertos requisitos. Además de ser eficiente antagonista, debe ser seguro para el medio ambiente, no presentar riesgos toxicológicos, presentar bajo costo de producción y su uso debe ser rentable económicamente. El desarrollo de nuevos productos de control biológico se inicia con los programas de aislamiento de antagonistas. En esa fase pueden ser obtenidos centenas o millares de candidatos que deberán superar diversas etapas de evaluación. Considerando los costos involucrados en las últimas etapas del desarrollo, es importante descartar tempranamente a los candidatos no deseados mediante pruebas rápidas y de bajo costo. En las primeras etapas pueden ser utilizadas pruebas in vitro, en medios de cultivo con agar u otros sustratos más económicos. Para patógenos obligados pueden realizarse pruebas usando tejidos vegetales como hojas o incluso discos de hojas. Estas pruebas se realizan con objetivos como: determinar el crecimiento en diferentes sustratos; evaluar la producción de esporas; determinar la tolerancia a diversas condiciones de estrés (temperaturas, humedades, radiación); determinar los mecanismos de acción, entre otros. Mediante pruebas rápidas se debe descartar en forma temprana a aquellos microorganismos con carencias evitando su pasaje a etapas posteriores de desarrollo que normalmente son costosas en dinero y en tiempo. Pasadas estas etapas es necesario realizar la identificación del agente de control biológico a nivel de especie ya que eso permite buscar información en la literatura y consecuentemente facilitar las etapas siguientes. También con ese conocimiento se pueden evaluar o estimar los posibles riesgos toxicológicos y ambientales de los antagonistas. De esa manera, los bioensayos complejos y costosos, seguidos por los ensayos de campo que se llevan a cabo para evaluar su eficacia en el control de la enfermedad, debe ser realizado solamente con un número limitado de candidatos a antagonistas que cumplan los criterios establecidos en las etapas de selección anteriores. Un análisis de las etapas y de las características que debe reunir un agente de biocontrol se discutirá utilizando los ejemplos de *Trichoderma* spp. para el control de fitopatógenos de suelo y de *Clonostachys rosea* para el control de *Botrytis*.

TCB_002 DEVELOPMENT AND USE OF MICROBIAL AGENTS FOR BIOLOGICAL CONTROL OF INSECT PESTS

Jackson, Trevor¹

¹ AgResearch, Lincoln Research Centre, (Nueva Zelanda)
trevor.jackson@agresearch.co.nz

Biological control with microbial agents can be an effective means of control and prevention of insect pest outbreaks. Insects are susceptible to a broad range of microbial pathogens, causing distinctive diseases, which are an important resource for biological control. Natural disease epizootics, however, usually follow pest outbreaks in a delayed-density-dependent manner after much damage has occurred. To prevent this damage, entomopathogenic microbes must be artificially produced and introduced

early in the population cycle. Successful use of these microbial agents will depend on selection of stable, effective strains of microbes and development of application strategies based on the characteristics of the pest and host/pathogen interaction. For pests invading a new environment, inoculation can be sufficient to start an epizootic of disease which will spread naturally through the pest population. In the case of rhinoceros beetle outbreaks on the Pacific Islands, release of a few artificially infected beetles is usually enough to initiate the disease cycle. Where pest outbreaks occur in new crops or pasture, after biological activity has been disrupted by cultivation, the benefits of biological control can be achieved by application of entomopathogenic microbes against healthy rising insect populations. Control of the New Zealand grass grub by the bacterium *Serratia entomophila* is achieved by establishment and recycling of the bacterium in the pest population. Where there is little replication of the microbe after application, the microbe can be used as a biopesticide, such as *Bacillus thuringiensis* (Bt), to give high levels of control and limit the pest outbreak. In all cases, microbial controls must be economical for the user and amenable to large scale production to provide viable alternatives to chemical pesticides. Production of high density cell cultures is the first step in the product development process and cells must be robust enough for further processing. After production, cells are formulated for survival in storage and format for application. Wettable powders, granules and baits can all be used in biological control. Application methods must take account of the characteristics of the applied agent. Non-sporeforming microbes are often susceptible to ultra-violet light or desiccation and have to be applied in a protected formulation or directly to the soil. Farmer/applicator understanding of the characteristics of the microbial agent and its activity will be essential for long-term success. Microbial products are often more susceptible to stresses during handling and application and may not have the speed of activity of their chemical counterparts. The successful use of microbial agents in biological control will require a strong and effective partnership between researchers, microbial producers and the farmer users of biological control. Once biological control systems are established they will underpin maintenance of safe environments and a sustainable agriculture for the future.

11:00 a 11:15

Pausa

11:15 a 12:00

III Taller AMCB

TCB_003 GESTÃO DE COLEÇÕES DE CULTURAS MICROBIANAS: PAPEL NA CONSERVAÇÃO, USO SUSTENTÁVEL DOS RECURSOS E CONTROLE DE QUALIDADE

Sueli, Corrêa Marques de Mello¹; Clarissa, Silva Pires de Castro¹; Rogério, Biaggioni Lopes¹

¹ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasil)
smello@cenargen.embrapa.br

As coleções de culturas microbianas representam importantes fontes de variabilidade genética, além de proporcionar estoques de linhagens nativas para uso em diversos programas de interesse da sociedade. Seus produtos básicos são insumos, material biológico certificado e informações associadas, oferecendo ainda serviços, desde que estejam de acordo com padrões de qualidade aceitáveis e em conformidade com as leis, regulamentos e políticas nacionais. Diante desta importância, as coleções necessitam garantir a qualidade de seus materiais por meio da adoção de boas práticas advindas da implantação de um Sistema da Qualidade (SQ), que pode estar baseado em diversas Normas de Qualidade (ex: ISO9001, ISO 17025).

No âmbito mundial, a *Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE)*, organismo internacional e intergovernamental que agrupa os países mais industrializados da economia do mercado, produziu um documento (*Best Practice Guidelines for BRCs, 2007*) que dispõe sobre a aquisição, conservação, cultivo e distribuição de microrganismos. Esse documento traz as diretrizes para funcionamento dos Centros de Recursos Biológicos (CRBs). Entretanto, as coleções podem ser de diferentes tipos (de trabalho, de referência ou de serviços), dependendo dos objetivos a que se propõem, e com diferentes níveis de exigência na definição e aplicação das normas de qualidade. É importante mencionar a iniciativa da OCDE ao definir uma estratégia de implementação da Rede Global de CRBs. Neste aspecto, os esforços foram centrados na discussão e definição de critérios de acreditação de acordo com regras internacionais, estabelecimento de critérios de qualidade e padrões de operação de centros de recursos biológicos, abordando ainda questões de biossegurança e harmonização do arcabouço legal entre países.

As coleções de serviços devem ser gerenciadas por um profissional qualificado com experiência e conhecimento sobre os microrganismos conservados, seus requerimentos para crescimento e seus usos potenciais. Ações de gerência devem nortear todo o processo de implantação do SQ, desde a definição da Norma de qualidade a ser implantada e o escopo (laboratórios com estudos e ensaios alvos da acreditação e áreas administrativas envolvidas), elaboração e aprovação de

documentos do SQ, implantação do programa de auditorias internas da qualidade, até a recomendação da acreditação/certificação da coleção e seus ensaios/atividades pelo Organismo Externo. O último passo desse processo compreende o uso de documentos e registros do SQ (resultados de auditorias internas, análise crítica pela Alta Direção, análise de dados, ações corretivas e preventivas, política e objetivos da qualidade) pela Instituição onde está localizada a coleção, visando o aprimoramento contínuo da eficácia do SQ e, conseqüentemente, dos materiais biológicos e serviços oferecidos.

Referência

BRASIL. 2002. Ministério da Ciência e Tecnologia. Sistema de Avaliação da Conformidade de Material Biológico. Brasília, SENAI/DN. 102 p.

12:00 a 12:30

III Taller AMCB

Sesión de posters

TCB_004 BACTERIAS RIZOSFERICAS PARA EL MANEJO DE LA CANCROSIS EN LOS CÍTRICOS.

*Adler, Conrado*¹; *de Cristobal, Ricardo*¹; *Lami, Jesus*¹; *Welin, Bjorn*²; *Fillipone, Paula*²; *Castagnaro, Atilio P*²; *Vincent, Paula A*¹

¹ Departamento de Bioquímica de la Nutrición Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO) Tucumán (Argentina); ² Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombares (EAAOC) Sección Biotecnología Tucumán (Argentina)
conadler@uolsinectis.com.ar

La cancrrosis de los cítricos es una enfermedad causada por la bacteria *Xanthomonas citri* sp. *citri*, la cual puede causar un daño extenso a las ramas, hojas y frutos de variedades de cítricos susceptibles. Esta enfermedad a menudo causa la caída prematura de frutos y lesiones en la cáscara lo que limita su comercio. Esta bacteria sobrevive periodos extensos en las ramas y el tallo de los cítricos. Esta enfermedad es un peligro para las áreas que producen cítricos en la Argentina, porque se disemina rápidamente, tiene un potencial de daño muy alto e impacta las exportaciones a países extranjeros y el movimiento inter-provincial. La rizósfera es la parte del suelo inmediata a las raíces de las plantas, donde se produce una interacción dinámica entre factores bióticos y abióticos. Las bacterias que habitan la rizósfera y que tienen la capacidad de provocar un efecto positivo en la planta se les denomina Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR, por las siglas en inglés) Este efecto benéfico puede ser directo a través de la promoción del crecimiento; o indirecto, por la influencia que causan en el medio ambiente de la rizósfera. Existe un creciente interés por su potencial como agentes de biocontrol y de hecho, ya se han desarrollado bioproductos comerciales para el manejo sobre todo de enfermedades de cultivos hortícolas. Esta área aún no se le ha prestado suficiente atención, sobre todo con una profunda caracterización de la química de la interacción, es decir de la identificación de metabolitos y su efecto en el ecosistema rizosférico. En nuestro laboratorio se encaró la búsqueda de bacterias rizosféricas productora de metabolitos secundarios con acción antibiótica sobre patógenos de citrus. De esta búsqueda se pudo caracterizar por técnicas moleculares, bacterias del género *Pseudomonas*, las cuales son productoras de agentes antagonistas contra *Xanthomonas* sp. (Designadas CA1 y CA2). En las pruebas de inhibición de *Xanthomonas* tanto in vivo como in vitro se usó extractos a partir de sobrenadantes de estas cepas, los cuales mostraron una potente actividad contra *Xanthomonas citri* sp. *citri*. Además, estos extractos contienen metabolitos que gatillan la respuesta de defensa en plantas, haciendo más resistentes a los cultivos de citrus contra *Xanthomonas citris* sp. *citri*. Demostramos que la aplicación de cultivos bacterianos puros tanto de CA1 como de CA2, estimulan el crecimiento cuando son aplicados en semillas de citrus, obteniendo plantines de mayor altura, mas entrenudos y mayor follaje, con respecto a un control no tratado con dichas cepas. Actualmente estamos purificando los compuestos activos producidos por CA1 y CA2, con el objetivo de elucidar la estructura química.

TCB_005 IMPACTO DE LA INOCULACIÓN DE LA CEPAS PROMOTORA DEL CRECIMIENTO VEGETAL *Pseudomonas fluorescens* α C119 EN LA IMPLANTACIÓN DE LA ALFALFA

*Yanes, María Lis*¹; *Braga, Lucía*¹; *Altier, Nora*²; *Arias, Alicia*¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana, IIBCE (Uruguay); ² Sección Protección Vegetal INIA Las Brujas (Uruguay)
luciabraganan@gmail.com

La instalación de un cultivo de alfalfa exitoso, con el cual obtener un alto rendimiento forrajero, depende del establecimiento de un buen número de plantas durante el primer año del cultivo. Las enfermedades de implantación son un factor limitante en el mantenimiento de alfalfares productivos. El control biológico mediante *Pseudomonas* fluorescentes puede estimular el crecimiento de las plantas y/o disminuir el daño

provocado por patógenos favoreciendo la implantación del cultivo. La cepa nativa *P. fluorescens* α C119, originalmente aislada de rizósfera de alfalfa presenta un gran potencial como agente de biocontrol y de promoción del crecimiento vegetal. Dicha cepa produce metabolitos secundarios con actividad antifúngica tales como ácido cianhídrico, proteasas y un antibiótico de tipo biosurfactante. Dicha cepa ha mostrado un efecto protector significativo contra el *damping-off* causado *Pythium debaryanum* y el aumento de biomasa vegetal en condiciones controladas. Los objetivos del presente trabajo son la evaluación del efecto biocontrolador y promotor del crecimiento de la cepa α C119 sobre la alfalfa en condiciones de campo y el impacto de su inoculación sobre la estructura de la comunidad bacteriana asociada a la raíz de la planta. Para ello se realizó un ensayo de campo en el cual las semillas de alfalfa fueron tratadas con un inoculante basado en la cepa de *P. fluorescens* el cual se aplicó junto con el rizobio comercial. Como tratamiento control se sembró alfalfa inoculada únicamente con el rizobio. Se evaluará el porcentaje de emergencia a los 15 y 30 días, la implantación a los 60 días y la biomasa aérea a los 60 y 120 días post siembra. Por otra parte, se determinará la capacidad colonizadora de la raíz de alfalfa por la cepa α C119. Para ello se realizarán recuentos en placa a partir de rizósfera de alfalfa colectada a los 15, 30, 60 y 120 días post siembra. El impacto de la introducción de la cepa *P. fluorescens* α C119 sobre la estructura de la comunidad bacteriana de la raíz de alfalfa se determinará mediante DGGE (*Denaturing Gradient Gel electrophoresis*) del ADNr 16S amplificado por PCR a partir del ADN total extraído de la rizósfera de plantas inoculadas con los dos tratamientos mencionados. Estos resultados contribuirán al desarrollo de un producto biotecnológico basado en una cepa nativa la cual aportará una herramienta más para el desarrollo de sistemas agrícolas sustentables. Proyecto financiado por Fondo Clemente Estable

TCB_006 PRODUCCION SUSTENTABLE DE *Eucalyptus globulus* LABILL. EN VIVEROS FORESTALES: USO DE *Trichoderma harzianum* RIFAI COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO

*Tornatore, Adriana*¹; *Rodriguez, Pablo Ismael*²; *Sobrero y Rojo, María del Pilar*³; *Cucciuffo, Emiliano*³; *Giachino, Victoria*³; *Penon, Eduardo Augusto*³; *De Falco, Pablo Daniel*³; *Craig, Elena Beatriz*³

¹ Instituto Faa di Bruno (Argentina); ² Universidad Nacional de Lujan - NITRAP (Argentina); ³ Universidad Nacional de Lujan (Argentina)
craigelena@yahoo.com.ar

En Argentina se producen anualmente un promedio de 55 millones de plantines forestales de distintas especies de pinos y eucaliptos principalmente. El mercado forestal a nivel mundial exige plantas de calidad, pero cuya producción sea sustentable teniendo en cuenta aspectos ambientales, económicos y sociales. El objetivo de este estudio fue evaluar durante el ciclo de cultivo en vivero de *Eucalyptus globulus* Labill, el uso del hongo *Trichoderma harzianum* Rifai como una alternativa productiva de bajo impacto ambiental en su acción como promotor de crecimiento. El ensayo se realizó en el invernáculo de la Universidad Nacional de Lujan. Se utilizó sustrato forestal esterilizado con las distintas dosis y formulaciones de *Trichoderma harzianum* (Th1 formulada en turba y T2 formulada en talco). Se aplicó fertilizante de liberación lenta a todos los tratamientos (25 gr/bandeja). Se sembraron semillas de *Eucalyptus globulus* de rodal semillero, de procedencia local (INTA 25 de Mayo). Se utilizaron bandejas de 40 celdas de 90 ml y el diseño fue completamente aleatorizado con 6 repeticiones: T1 (Testigo), T2 (cepa T2 en talco 10gr/bandeja), T3 (cepa T2 en talco 20 gr/bandeja), T4 (cepa Th1 en turba al 5% en volumen), T5 (cepa Th1 en turba al 10% en volumen). Se evaluó a los 3 y 5 meses: altura, biomasa aérea y biomasa radicular. Al principio y al final del ensayo se determinó el número de unidades formadoras de colonia (UFC) del hongo en el sustrato. Los datos fueron analizados estadísticamente por ANOVA y test de medias LSD. En el análisis de varianza se observa que todas las variables son significativas excepto la biomasa radicular. Las variables que mejor respuesta tuvieron a los tratamientos son la altura y la biomasa aérea. En la primera evaluación, los tratamientos T4 y T5 formulados con turba, presentaron plantas significativamente más altas que el testigo (+24%) y de mayor biomasa aérea (+37%) respecto del testigo ($p < 0.001$). Al final del ensayo, los tratamientos T4 y T3 mostraron plantas significativamente más altas que el testigo (+15%) y de mayor biomasa aérea (+40%), respecto al testigo ($p < 0.05$). Respecto a la evolución de las UFC del hongo, T3, T4 y T5 tuvieron alta sobrevivencia, llegando al final del ensayo con concentraciones, aunque menores que las iniciales, consideradas efectivas. Las cepas Th1 y T2 de *Trichoderma harzianum* promovieron el crecimiento en altura y biomasa aérea de plantas de *Eucalyptus globulus* en vivero. Dicho efecto fue mayor a los 3 meses post-siembra. Es importante evaluar el tipo de formulación del hongo y su sobrevivencia en las distintas condiciones de cultivo de plantas en vivero para poder recomendar distintas posibilidades de manejo del mismo.

TCB_007 CONTROL DEL MOHO GRIS DE LA VID OCASIONADO POR *Botrytis cinerea* MEDIANTE APLICACIONES DEL BIOFUNGICIDA ZIMEVIT (*Bacillus subtilis* + *Metchikowia pulcherrima*).

*Casanova, Leticia*¹; *Valenzuela, Esteban*²; *Chiola, Fiorella*²; *Lopez, Leone*²; *Porro, Juan*²; *Calero, Graciela*²; *Bentancur, Oscar*¹; *Alaniz, Sandra*¹; *Mondino, Pedro*¹
¹ Facultad de Agronomía (Uruguay); ² Escuela Superior de Vitivinicultura, Universidad del Trabajo del Uruguay (Uruguay)
leticasa1@fagro.edu.uy

El moho gris causado por *Botrytis cinerea*, provoca pérdidas importantes en la producción de vid. Su control es dificultoso y se basa en el uso de fungicidas. Las aplicaciones cercanas a la cosecha pueden provocar modificaciones en la composición química de las uvas infectadas para la vinificación afectando la fermentación del mosto, dejar residuos en uvas de mesa y en vino causa de rechazo en mercados de exportación. Un problema adicional es la generación de resistencia en las poblaciones del hongo a los productos utilizados. El control biológico surge como una alternativa promisoriosa y varios productos han alcanzado la etapa de desarrollo comercial en diferentes países. El biocontrolador Zimevit, desarrollado en Uruguay, combina la acción de una bacteria (*Bacillus subtilis*, UYBC38) y una levadura (*Metchikowia pulcherrima*, M26). Este producto fue evaluado en tres ensayos durante las temporadas 2008-2009 y 2009-2010 en cultivos a campo en las variedades Cabernet Franc y Gewurztraminer para el control del moho gris. La aplicación de Zimevit se realizó directamente a la zona de los racimos en tres momentos: floración, estadio de "arveja" y envero. Otros dos tratamientos fueron incluidos: el fungicida iprodione como testigo químico y agua como testigo sin tratamiento. Al momento de cosecha se evaluó incidencia y severidad de la enfermedad mediante escala visual. En los tres ensayos realizados la incidencia de la enfermedad resultó ser muy baja (menor al 1%) lo que indica que se trató de años poco favorables al desarrollo del moho gris en racimos. La aplicación de Zimevit en esas condiciones, resultó en una menor incidencia del moho gris en los racimos al momento de la cosecha respecto al testigo con agua, aunque solamente en el primer ensayo realizado en el año 2009 las diferencias fueron estadísticamente significativas. En los tres ensayos realizados, la severidad de la enfermedad obtenida cuando se aplicó el producto biológico Zimevit fue significativamente menor a la obtenida en el testigo con agua. Los resultados obtenidos indican que es posible pensar en la integración del uso del biofungicida Zimevit en un programa de manejo integrado del moho gris de la vid. Sin embargo, será necesario evaluar el comportamiento de este biofungicida en condiciones de mayor presión de enfermedad por lo que se realizarán más ensayos de campo antes de brindar una recomendación definitiva.

TCB_008 EFECTO DEL PELETIZADO DE SEMILLAS DE SORGO DULCE CON *Trichoderma sp.* PARA EL CONTROL DE *Fusarium nygamai*

*Bettucci, Lina*¹; *Tiscornia, Susana*¹; *Lupo, Sandra*¹; *Corallo, Belén*¹
¹ Facultad de Ciencias-Facultad de Ingeniería (Uruguay)
belcorall@hotmail.com

Fusarium nygamai es un hongo fitopatógeno que produce grandes pérdidas en cultivos de sorgo dulce. Una alternativa empleada para el control de hongos fitopatógenos está basada en la utilización de agentes de control biológico. En particular *Trichoderma sp.* es un hongo ampliamente utilizado con este fin por producir metabolitos secundarios con capacidad antagonista frente a otros microorganismos, por su rápida velocidad de crecimiento y por promover el crecimiento de algunas plantas. En trabajos previos realizados en el Laboratorio de Micología seleccionamos dos cepas de *Trichoderma* productoras de metabolitos secundarios capaces de inhibir el crecimiento de cepas de *F. nygamai* aisladas de sorgo dulce. Estas cepas fueron: *T. harzianum* (T6) y *T. atroviride* (T21). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del peletizado de semillas de sorgo con las dos cepas de *Trichoderma* seleccionadas para controlar a *F. nygamai*. Para evaluar el efecto sobre la germinación de las semillas se colocaron en cajas de Petri con medio agar-agua semillas de sorgo dulce esterilizadas superficialmente. Las condiciones ensayadas fueron las siguientes: a) semillas solas, b) con el adherente comercial A.D.Cell, c) con una mezcla de dos cepas de *F. nygamai*, d) con la cepa T6 y e) con la cepa T21. Con la finalidad de evaluar el efecto del peletizado en el control biológico de *F. nygamai*, las semillas previamente mezcladas con la suspensión de esporas de *Trichoderma* (10⁶ esporas/ml) y adherente se colocaron en tubos con agar-agua y se aplicaron 100 µl de una suspensión de esporas de *F. nygamai* (10⁶ esporas/ml). También se realizaron tubos con semillas solamente con *Trichoderma* y otros solo con *F. nygamai*. Se dejaron germinar y se observó la presencia de síntomas. Al finalizar el ensayo se determinó el peso fresco de las plantas y se recuperaron los hongos presentes dentro de las mismas, mediante el cultivo de fragmentos de los distintos órganos. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo en las semillas solas. En el caso de las semillas peletizadas con las cepas de *Trichoderma* T6 y T21 e inoculadas

con *F. nygamai* se observó una disminución en la mortalidad de las plántulas en comparación con las semillas no peletizadas con *Trichoderma* e inoculadas con *F. nygamai*. Todas las plantas inoculadas con *Fusarium* desarrollaron el síntoma. El peso fresco fue mayor para las plantas sin tratar y con adherente, seguido de los tratamientos con *Trichoderma*, *Trichoderma* más *Fusarium* y solo *Fusarium*. En todos los casos se logró recuperar los hongos inoculados.

TCB_009 CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS CORTADORAS MEDIANTE EL USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

*Corallo, Belén*¹; *Mioneto, Ana*¹; *Ruiz, Rafael*¹; *Tiscornia, Susana*¹; *Martínez, Sebastián*¹; *Lupo, Sandra*¹; *Bettucci, Lina*¹
¹ Facultad de Ciencias-Facultad de Ingeniería (Uruguay)
belcorall@hotmail.com

Los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* han sido eficientemente utilizados como agentes de control biológico de varios insectos, incluyendo las hormigas cortadoras. El objetivo de este estudio fue evaluar bajo condiciones de campo distintas formulaciones de *M. anisopliae* y *B. bassiana* para el control de dos especies de hormigas, *Acromyrmex lundi* y *Acromyrmex heyeri*. La producción de esporas se llevó a cabo mediante la inoculación de granos de arroz, previamente humedecido y autoclavado, con una suspensión de esporas (10⁶ esporas/ml) de cada uno de los hongos. El cultivo se mantuvo a temperatura ambiente 20-25°C y condiciones naturales de alternancia de luz oscuridad. Las esporas de *Metarhizium* se separaron del sustrato mediante un colector de esporas. Las esporas de *Beauveria* se separaron del arroz resuspendiéndolas en una solución de agua y tween al 0.05%. Para la aplicación de *Metarhizium* se utilizaron formulaciones diferentes: 1) cebo preparado con cáscara de naranja molida con un adherente comercial y esporas a dos concentraciones (1 x 10⁹ y 2 x 10⁹ esporas/g.), 2) esporas en una suspensión al 10% en harina de arroz, en polvo a una concentración de 1x10¹⁰ esporas/g. y 3) esporas en una suspensión en agua al 4,2 x 10⁷ esporas/ml. *Beauveria* se aplicó únicamente en una formulación líquida al 4,2 x 10⁷ esporas/ml de agua. En todos los casos se efectuaron tres aplicaciones. La aplicación del cebo se realizó directamente en los caminos de *A. heyeri* y *A. lundi*. Tanto las formulaciones en polvo como las líquidas se aplicaron directamente en los hormigueros de ambas especies. El cebo fue llevado por las hormigas dentro del hormiguero pero la colonia permaneció activa en todos los casos. Dado que el cebo con mayor concentración de esporas era rechazado por las hormigas se supone que esta estrategia de aplicación debe ser revisada. Los hormigueros de *A. heyeri* tratados con formulación líquida presentaron una disminución paulatina de la actividad luego de las tres aplicaciones. Tanto *Metarhizium* como *Beauveria* tuvieron un efecto similar en controlar los hormigueros. En el caso de *A. lundi* se observó un control parcial de los hormigueros con la formulación en polvo de *Metarhizium*.

TCB_010 PROYECTO: INSTALACIÓN DE UN CENTRO DE MULTIPLICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE AGENTES MICROBIANOS PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES Y PLAGAS EN HORTICULTURA.

*Patrón, Gustavo*¹; *Juncal, Manuel*²; *González, Pablo*²
¹ Sociedad de Fomento Los Arenales (Uruguay); ² Facultad de Agronomía - UDELAR (Uruguay)
pgonzarab@fagro.edu.uy

La Sociedad Fomento Rural Los Arenales ubicada en el departamento de Canelones está inserta en una zona de producción ganadera-hortícola. La producción hortícola protegida es desarrollada por 40 familias socias de la institución. El 80% es destinado a la producción de tomate fresco. Los principales problemas diagnosticados en el cultivo son: plagas; mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci*), polilla del tomate (*Tuta absoluta*). Las enfermedades bacterianas más importantes son el cancro bacteriano (*Clavibacter michiganensis*) y la murchera (*Ralstonia solanacearum*), en cuanto a las enfermedades fúngicas se encuentra el complejo de hongos de suelo (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*). Existe un uso indiscriminado de agroquímicos para el control de estas plagas. Un estudio realizado en el año 2009 por el CIAT a una muestra de familias determinó que el 20% de los mismos presentan diferentes niveles de contaminación por plaguicidas. Se generaron contactos con la Facultad de Agronomía e INIA a efectos de proponer soluciones a esta problemática como la producción y aplicación de agentes biológicos. Existen numerosos antecedentes a nivel mundial y nacional con resultados exitosos de diferentes microorganismos controlando plagas y enfermedades. *Metarhizium anisopliae* *Encarsia formosa* y *Trichoderma harzianum*, han tenido resultados positivos en el control de estas plagas. La incorporación de productos alternativos a los sistemas de producción determina un cambio sustancial en los métodos de control que dificulta en primera instancia su adopción. El proyecto contempla la capacitación permanente por parte de Facultad de Agronomía e INIA a productores y técnicos para un buen uso del agente biológico, ya que requiere un mayor conocimiento para su aplicación. El objetivo que persigue este emprendimiento es contribuir en la mejora de los ingresos y la calidad de vida de

los productores familiares asociados a la SFR Los Arenales y su zona de influencia. Esta se encargará de la producción y comercialización de los agentes biológicos producidos así como las instalaciones necesarias para desarrollar estas actividades. Para la ejecución del proyecto se definen diferentes etapas: Instalación de laboratorio y salas de multiplicación. Capacitación del personal a cargo del laboratorio y salas de multiplicación. Producción a escala comercial de los distintos agentes biológicos. Capacitación de productores y técnicos del territorio en el uso de esta herramienta. Seguimiento y supervisión en predios de referencia que permita ajustar técnicas de aplicación del agente biológico. Difusión de los resultados obtenidos a productores y técnicos. Distribución a productores de los agentes de control biológico. Prospección y desarrollo de nuevos agentes biológicos.

TCB_011 GENERACIÓN DE LEVADURAS CON PROPIEDADES INSECTICIDAS

*Harispe, Laura*¹; *Silva, Horacio*²; *Mailhos, Milagros*¹; *Castiglioni, Enrique*²; *Carlini, Celia*³; *Aguilar, Pablo*¹

¹ Institut Pasteur de Montevideo (Uruguay); ² Estación Experimental Mario Cassinoni, UDELAR (Uruguay); ³ Centro de Biotecnología, Univ. Federal do Rio Grande do Sul (Brasil)
lharispe@fcien.edu.uy

Los insectos constituyen uno de los principales grupos de plagas agrícolas afectando de manera negativa tanto la producción de campo abierto como la de invernadero. En Uruguay, en los últimos años se ha producido un aumento del área de cultivos de verano, especialmente la soja, que genera un desafío para mantener un sistema agrícola sostenible. La principal limitante de este cultivo es el control de chinches (Hemiptera: Pentatomidae), - en particular *Piezodorus guildinii*, la especie predominante en Uruguay - que son favorecidas por la abundancia de alimento^(1,2).

Las semillas de la leguminosa *Canavalia ensiformis* producen una forma de la enzima ureasa - llamada canatoxina - que posee actividad insecticida. Esta actividad afecta a los insectos que poseen sistemas digestivos basados en proteasas tipo catepsinas, incluyendo algunos de relevancia médica y agrícola tales como *Nezara viridula*, *Dysdercus peruvianus*, *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans*⁽³⁾. La entomotoxicidad de la canatoxina se basa en la presencia de un péptido interno de 10-15 kDa, denominado Jaburetox, que puede ser producido in vitro mediante hidrólisis de la ureasa con catepsinas obtenidas de insectos susceptibles. Este péptido, obtenido de forma recombinante en *E. coli*, ha demostrado potente actividad insecticida cuando es introducido en la dieta de varios insectos^(4,5,6). Asimismo, se ha demostrado que la administración oral o mediante inyección intraperitoneal de altas dosis de Jaburetox-2Ec (10 mg/kg) a ratones y ratas, no produce la muerte ni síntomas de toxicidad aguda. Nos proponemos desarrollar nuevos agentes de control biológico basados en la expresión recombinante de esta entomotoxina. Hemos demostrado que *S. cerevisiae* es un modelo biológico compatible con la expresión de este péptido. Una versión de Jaburetox marcada en su extremo C-terminal con V5-6XHis (Jbx-2Ec) fue clonada en distintos tipos de vectores de expresión y se determinaron los niveles de proteína obtenidos. En base a estos resultados, nos proponemos utilizar este organismo como modelo para el desarrollo de cepas de levaduras que, a través de la producción de este péptido insecticida, presenten capacidad entomotóxica sobre tres insectos blanco que afectan la producción regional de soja (*Piezodorus guildinii*), maíz (*Spodoptera frugiperda*) y algodón (*Dysdercus peruvianus*). (1) Corrêa-Ferreira, B.S.; Azevedo, J.; 2002. Agriculture and forest entomology, 4:145-150.

(2) Silva, M.T.B.; et al.; 2007. Cultivar N° 82, 2006. IRAC-BR, Noticias. Comitê Brasileiro de Ação à Resistência de Insetos. 3) Carlini et al.; 1997. J. Econ. Entomol. 90, 340-348.

4) Mulinari et al.; 2007. Peptides 28: 2042-2050.

5) Staniscuaski, et al.; (2009). J. Insect Physiol. 55: 255-263.

6) Tomazetto, et al.; 2007. Enz Microb Technol. 41: 821-827.

TCB_012 EFECTO DE LOS PROMOTORES BIOLÓGICOS CEPA UP61 DE *Pseudomonas fluorescens* Y EM (MICROORGANISMOS EFECTIVOS) EN LA IMPLANTACIÓN DEL CULTIVO DE ALFALFA (*Medicago sativa* L.)

*Irigoyen, Alfredo*¹; *Altier, Nora*²; *Formoso, Danie*³; *Lage, Martin*⁴

¹ Instituto Plan Agropecuario (Uruguay); ² INIA (Uruguay); ³ Facultad de Ciencias Agrarias (UDE) (Uruguay); ⁴ Lage & Cia (Uruguay)
irigoyen@planagropecuario.org.uy

En Uruguay, la alfalfa (*Medicago sativa* L.) tiene destacada importancia en la intensificación de los sistemas de producción ganaderos y lecheros. Su expansión está restringida por enfermedades que interaccionan con factores ambientales y de manejo y que reducen su persistencia. Entre las enfermedades, las causadas por patógenos de suelo (género *Pythium*) afectan las raíces de las plántulas antes o después de la emergencia (*damping off*). La utilización de agentes de biocontrol ha logrado resultados promisorios en la implantación del cultivo. El objetivo de esta investigación fue evaluar

el efecto de los promotores biológicos UP61 (cepa de *Pseudomonas fluorescens*) y EM (microorganismos efectivos) como alternativa al curasemilla (Metalaxil) para controlar los problemas de implantación. El 25/6/2010 en un suelo arenoso cercano a la ciudad de Florida (34° 5' 44 S, 56° 11' 58 W), se instaló un experimento a campo y en invernáculo. Los tratamientos fueron semilla inoculada con *Sinorhizobium meliloti* cepa U143 y tratada con Metalaxil 35 CE; UP61; EM y un testigo sin tratar de alfalfa Estanzuela Chaná (85% de germinación y 5% de semilla dura), en bloques al azar con cuatro repeticiones. En invernáculo se utilizaron seis macetas por tratamiento con 29 semillas por maceta; a campo se sembraron por parcela cinco líneas de seis metros separadas a 0,17 cm. La densidad de siembra fue de 600 semillas m² (100 semillas por metro lineal). En las tres líneas centrales se intercalaron 12 cilindros de PVC de 75 mm de diámetro y 30 cm de largo con tres semillas por cilindro. Se realizaron conteos de emergencia de plántulas a los 8, 15, 30, 45, 60 y 90 días después de la siembra. Los conteos fueron analizados mediante pruebas no paramétricas, estableciéndose un valor de significación entre tratamientos de 5%. En las macetas y los cilindros se registró el peso fresco total por planta, el peso radicular, el peso foliar por diferencia y el largo de raíces. En invernáculo, las medias de los tratamientos fueron separadas por mínimos cuadrados ($\alpha < 0.05$), mientras que a campo se aplicó un modelo mixto con los promotores como efecto fijo y los bloques como efecto aleatorio. En invernáculo, con Metalaxil se obtuvo un mayor número de plantas instaladas, de mayor peso y de mayor longitud de raíz, mientras que los promotores biológicos mostraron un efecto intermedio, pero superior al testigo ($p < 0.05$). A campo, no se obtuvo respuesta a los promotores biológicos, siendo el testigo superior en las variables estudiadas ($p < 0.05$), aunque con una pérdida progresiva de plantas mayor en relación a los promotores UP61 y EM. Las precipitaciones y las heladas registradas podrían haber incidido en estos resultados, siendo el periodo de siembra un factor relevante para el establecimiento del cultivo.

TCB_013 ESTADO DEL ARTE DE LAS LINEAS ACTUALES DE INVESTIGACION ACERCA DE HONGOS PATOGENOS DE INSECTOS EN EL CEPAVE, LA PLATA ARGENTINA

*Lopez Lastra, Claudia*¹; *D'Alessandro, Celeste*¹; *Alejandra, Gutierrez*¹; *Rueda Paramo, Manuel*¹; *Manfrino, Romina*¹; *Schapovaloff, Maria Elena*¹; *Albornoz Medina, Patricia*²; *Hipperdinger, Marcela*¹; *Garcia, Juan Jose*¹

¹ CEPAVE (Argentina); ² CEPAVE- PROIMI (Argentina)
claudia@cepave.edu.ar

En los últimos años las líneas de investigación sobre hongos entomopatógenos en el CEPAVE, se están focalizando en investigaciones sobre hongos patógenos de insectos de interés agrícola: mosca blanca, pulgones y trips taladro de yerba mate, psilidos, mosca de la fruta y en cuanto a los vectores de interés sanitario: mosquitos y cucarachas, de la provincia de Buenos Aires, Santa Fe, Misiones y Tucumán. En este trabajo se exponen resultados de los hongos identificados, pruebas de patogenicidad, relevamiento a campo, cultivos e insectos hospedantes, y los objetivos y resultados obtenidos hasta el presente. Se han identificado hasta el presente más de 15 especies y aislamientos de hongos entomopatógenos y caracterizado aislamientos a través de su morfología, actividad biológica y en algunos casos por los estudios de taxonomía molecular, en este trabajo se presenta un estado de avance de los resultados obtenidos.

TCB_014 COLECCION DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS Y SIMBIOTES DE INSECTOS Y OTROS ARTRÓPODOS DEL CEPAVE. AISLAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE CULTIVOS, ESTADO DEL ARTE.

*Lopez Lastra, Claudia*¹; *D'Alessandro, Celeste*¹; *Gutierrez, Alejandra*¹; *Schapovaloff, Maria Elena*¹; *Tongiani, Silvana*¹; *Cabrera, Belen*¹; *Gonzalez, Alda*¹

¹ CEPAVE (Argentina)
claudia@cepave.edu.ar

La colección de hongos patógenos y simbiotes de insectos del CEPAVE, centro de estudios parasitológicos y de vectores, La Plata, Argentina, se mantiene desde el año 1984 siendo en sus inicios solo unos 30 aislamientos de hongos a partir de insectos. Actualmente se mantienen unos 350 aislamientos específicos entomopatógenos, simbiotes de insectos y de otros artrópodos. La cualidad que hace diferente a esta colección micológica es que es exclusiva de hongos entomopatógenos y por lo tanto la mantención de cultivos hace necesario el aislamiento periódico de las cepas a partir de insectos infectados así como la utilización de diferentes métodos de preservación, la estimación periódica de la viabilidad de los cultivos. Los métodos que se utilizan hasta el presente son agua destilada estéril, vaselina líquida estéril, sílica gel, papel esterilizado, freezer - 20°C y -70°C y transferencia en repiques sucesivos. Existe además una base de datos de la colección, si bien aun no está disponible en la

pagina web del CEPAVE, se encuentra incorporada en la base de datos de FELACC latinoamericana y en la WDMCC a nivel mundial y se proyecta editar un catálogo de la colección y página web para el año proximo. La colección tiene objetivos prioritarios de preservación de cepas, identificación y confirmación de especies entomopatógenas para fines de investigación, docencia y comerciales, planteando la necesidad a corto plazo de realizar certificación de especies fúngicas y cepas.

TCB_015 BIODIVERSIDAD DE HONGOS ENTOMOPHTHORALES PATÓGENOS DE INSECTOS PLAGA DE CULTIVOS AGRÍCOLAS DE LA ARGENTINA

*López Lastra, Claudia*¹; *Celeste, D' Alessandro*¹; *Manfrino, Romina*¹; *Salto, Cesar*²; *Hatting, Justin*³

¹ CEPAVE (Argentina); ² Inta Rafaela (Argentina); ³ ARC Small Grains Institute (Sudáfrica)
claudia@cepave.edu.ar

La biodiversidad de hongos Entomophthorales en insectos plaga de cultivos hortícolas y cereales en la Argentina ha sido poco estudiada y se ha informado hasta ahora la presencia de algunas especies como patógenos de insectos plaga hospedantes. Con el presente trabajo contribuimos a ampliar la extensión, distribución, espectro hospedador y de plantas sustrato de hongos entomopatógenos incluidos en el Orden Entomophthorales. Esta investigación ha incluido relevamientos en localidades de la provincia de Buenos Aires y de Santa Fe, en cultivos principalmente hortícolas, cereales, soja y hospederas circundantes. Los principales insectos plaga hospedantes son pulgones y trips y las especies de hongos patógenos identificadas han sido: *Zoophthora radicans*, *Zoophthora* sp., *Entomophthora planchoniana*, *Entomophthora* aff. *tripidarum*, *Neozygites fresenii*, *Neozygites* sp., *Conidiobolus obscurus* y *Pandora neoaphidis*.

TCB_016 SELECCIÓN DE LEVADURAS NATIVAS COMO HERRAMIENTA DE CONTROL BIOLÓGICO FRENTE A BOTRYTIS CINEREA

*Martin, Valentina*¹; *Medina, Karina*¹; *Carrau, Francisco*¹

¹ Sección Enología, Facultad de Química, UdelAR (Uruguay)
vmartin@fq.edu.uy

La producción vitícola uruguaya se ve afectada mayoritariamente por la enfermedad podredumbre gris o *Botrytis*. Esta es causada por el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, el cual produce grandes pérdidas tanto en la cantidad como en la calidad de la uva. La enfermedad se expande mediante la dispersión de las esporas del hongo por el viento o la lluvia, lo cual hace que su control mediante las prácticas de manejo habituales sea ineficiente. Por éste motivo se ha recurrido al uso de fungicidas sintéticos. El uso de estos productos es cuestionable por razones toxicológicas y por la aparición de cepas resistentes a ambos fungicidas. Debido a estos motivos, surge como alternativa el control biológico; donde mediante el uso de agentes vivos se controlan plagas o patógenos de plantas. El objetivo de éste trabajo es identificar levaduras de distintas variedades de *Vitis vinifera* con capacidad antagonista frente al fitopatógeno, y que además posean buenas características para el proceso de vinificación como son la capacidad fermentativa y características sensoriales obtenidas luego de la fermentación. Los resultados obtenidos fueron el aislamiento de 30 cepas de levaduras, 6 *Saccharomyces* y 24 No-*Saccharomyces*, las cuales mostraron una capacidad antagonista distribuida de la siguiente manera: 21 cepas con IE (índice de efectividad) entre 51 y 100%, 2 con IE entre 11 y 50% y 7 con muy baja IE (menor a 10%). Se puede concluir que la mayoría de las levaduras analizadas presentaron capacidad antagonista contra el patógeno; de las 30 cepas analizadas, 16 fueron seleccionadas por tener un alto IE frente al fitopatógeno y al mismo tiempo presentar buenas características para el proceso de vinificación.

TCB_017 ESTUDIO DE LA COMPATIBILIDAD ENTRE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y ACEITES NATURALES DE ORIGEN VEGETAL, CON POTENCIALIDADES PARA SER EMPLEADOS EN LA BIOPROTECCIÓN CONTRA PATÓGENOS DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

*De la Noval Pons, Blanca*¹; *Pino, O.*²; *Marquetti, I.*²; *Lorenzo, Adelay*¹; *Ortega Delgado, Eduardo*³

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) (Cuba); ² Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) (Cuba); ³ Facultad de Biología, Universidad de La Habana (Cuba)
eortega@fq.uh.cu

El cultivo del tomate se ve afectado por patógenos diversos, siendo los predominantes los fúngicos, entre los que sobresale la especie *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, el que se encuentra distribuido en todo el mundo causando pérdidas en el cultivo con disminuciones en los rendimientos de hasta un 60%. Una vez establecido este fitopatógeno no es posible erradicarlo, provocando en la planta marchites, clorosis y

necrosis foliar producto de la invasión del patógeno por el sistema vascular. Algunas de las alternativas empleadas a nivel mundial para el manejo de enfermedades, son el uso de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y productos biológicos que actúen activando las respuestas de defensa en las plantas. En este marco se estudió la compatibilidad que pudiera existir entre los HMA y diferentes bioproductos conformados por aceites de origen vegetal y un fosfolípido, los cuales poseen potencialidades en el biocontrol, contra este patógeno. Se realizó un experimento en condiciones controladas con un diseño completamente aleatorizado. Se encontró que ninguno de los bioproductos estudiados mostró respuestas de incompatibilidad con el hongo micorrizico arbuscular (*Glomus hoi*-like) en ninguna de las formulaciones empleadas (sólida y líquida) por el contrario, se observó que los identificados como 48 y 34 estimularon el establecimiento de la simbiosis micorrizica, evaluados como porcentaje de colonización, intensidad de la micorrización y peso del endófito. Este comportamiento se reflejó en la altura de las plántulas a los 21 días, indicador en el que también mostraron un buen comportamiento los aceites, identificados como 34 y 114, así como con el fosfolípido. El empleo combinado de estos bioproductos y los HMA constituyen alternativas de gran perspectiva para ser empleadas en la agricultura agroecológica, teniendo en cuenta el manejo agroecológico de las plagas, con incrementos de la productividad y protección al medio ambiente.

TCB_018 ACTINOMICETOS CON POTENCIAL BIOFERTILIZANTE Y FITOESTIMULANTE AISLADOS DE SUELOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE PLÁTANO EN EL CARIBE COLOMBIANO

*Otero-Jiménez, Vanessa*¹; *Guerra-Nossa, Alejandra*¹; *Sandoval-Lozano, Andres*¹; *Rodríguez-Villamizar, Fernando*¹

¹ Centro de Biotecnología y Bioindustria - CORPOICA-C.I.Tibaitatá (Colombia)
vanesotjim@gmail.com

El cultivo de plátano, uno de los productos más importantes a nivel nacional y mundial requiere de fertilización continua y uso de agroquímicos para prevenir problemas fitosanitarios, lo que deteriora el medio ambiente y aumenta los costos de producción. En busca de una posible solución a esta problemática, se plantea el uso de microorganismos nativos que provean a la planta los nutrientes necesarios para su desarrollo, producción y que adicionalmente sean capaces de disminuir el uso de agroquímicos. El objetivo de este trabajo consistió en aislar, seleccionar e identificar actinomicetos con potencial biofertilizante y fitoestimulante a partir de suelos asociados al cultivo de plátano en el Caribe colombiano. De acuerdo al nivel de producción de este cultivo, se seleccionaron tres municipios del Caribe colombiano, en los cuales se definieron zonas geomorfológicas homogéneas de donde se tomaron muestras de suelo rizósferico. Una vez recolectadas las muestras, se enviaron al Laboratorio de Microbiología Molecular del Centro de Biotecnología y Bioindustria de Corpoica (Mosquera-Colombia) para su análisis fisicoquímico y microbiológico. Para el aislamiento de los actinomicetos se utilizó agar avena y agar YEM suplementado con nistatina y a partir de estos, se registraron las características macro y microscópicas. Se determinó la solubilización de fosfatos cualitativamente por la producción de halos de acidificación y solubilización en agar SRS con carbonato de calcio y SRS con roca fosfórica, y cuantitativamente por la cantidad de fosfatos liberados en el medio. Se evaluó la producción de indoles totales por el método de Salkowsky y la fijación de nitrógeno mediante la prueba de reducción de acetileno (ARA). Adicionalmente se realizaron pruebas de antagonismo contra patógenos de interés para el cultivo de plátano (*Erwinia caratovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* y *Fusarium oxysporum*). La identificación molecular se realizó por secuenciación de 16S rRNA. De acuerdo a los resultados fisicoquímicos, se encontró que los suelos son predominantemente franco-arenosos con pH de moderadamente ácido a neutros, materia orgánica de moderado a baja, altos contenidos en fósforo y bajos contenidos de potasio. Se aislaron en total 33 actinomicetos de los municipios de Dibulla(10), Curumani(20) y María la Baja(3). De los cuales 15 son fijadores de nitrógeno con valores promedio de 140 nmol/hora/ml; 7 son solubilizadores de fosfatos con valores entre 15 y 1478 ppm; 15 son productores de indoles totales con valores entre los 0,50 µg/ml a 13 µg/ml; 12 aislamientos presentaron antagonismo, de los cuales 9 contra *F. oxysporum*. De los 20 aislamientos identificados molecularmente 9 presentaron alta similitud con *S. ansochromogenes*, 2 con *S. tubercidicus*, y los demás aislamientos con una especie diferente de *Streptomyces*. Con base en los resultados obtenidos, los actinomicetos aislados de la rizósfera del cultivo de plátano de la Costa Atlántica colombiana son potenciales promotores de crecimiento vegetal y antagonistas de patógenos del cultivo de plátano.

TCB_019 VARIABILIDAD INTER E INTRAESPECÍFICA EN LA CAPACIDAD ANTAGÓNICA DE CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma* SPP. ANTE *Pyrenophora tritici repentis* Y *Cochliobolus sativus*

Pérez, Carlos A.¹; De Lucca, Florencia¹; Villar, H. Andrés¹; Pereyra, Silvia²; Vero, Silvana³; Ernst, Oswald¹; Altier, Nora²

¹ Facultad de Agronomía, UdelaR (Uruguay); ² INIA (Uruguay); ³ Facultad de Química, UdelaR (Uruguay)
caperez@fagro.edu.uy

La agricultura uruguaya atraviesa por una etapa de grandes cambios tecnológicos que han conducido a los sistemas de producción a situaciones de alta presión de inóculo de distintas enfermedades. El uso generalizado de la siembra directa, y el inadecuado largo de rotación de cultivos que llega incluso en muchos casos al monocultivo, han resultado en un marcado aumento de las poblaciones de patógenos y, concomitantemente, en un aumento en la frecuencia de ocurrencia de epidemias de importancia económica. En este marco, nuestro grupo está estudiando alternativas de manejo de dichas poblaciones, con especial énfasis en el uso de agentes de control biológico con cepas nativas. En este sentido, *Trichoderma* spp. aparece como excelente candidato por su presencia natural en los rastrojos. Estudios previos, lograron identificar distintas alternativas de manejo que permiten aumentar la densidad poblacional nativa de *Trichoderma* en los rastrojos. A su vez, se identificaron las distintas especies de *Trichoderma* allí presentes. El objetivo del presente estudio fue analizar la capacidad antagónica de distintas cepas nativas obtenidas de rastrojos de cultivos extensivos, y determinar la variabilidad inter- e intra-específica en la capacidad antagónica de dichas cepas frente a dos de los principales patógenos que enfrenta la producción agrícola de Uruguay, *Cochliobolus sativus* y *Pyrenophora tritici repentis*. Dicha caracterización se realizó mediante la evaluación en cultivos duales e inhibición del crecimiento por compuestos volátiles. Se evaluaron 3 cepas de cada una de las 7 especies aisladas (*Hypocrea lixii*, *Trichoderma atroviridae*, *T. gamsii*, *T. hamatum*, *T. koningiopsis*, *T. spirale*, y *T. tomentosum*), totalizando 21 cepas. Las cepas evaluadas en cultivos duales mostraron diferencias significativas en la capacidad de inhibir ambos patógenos, con rangos de inhibición del 66-76% y 60-80% para *C. sativus* y *P. tritici repentis*, respectivamente. Por otro lado, las distintas cepas difirieron significativamente entre sí en su capacidad de inhibición por compuestos volátiles, con rangos generales del 20-40% y del 0-21% para *Cochliobolus sativus* y *Pyrenophora tritici repentis*, respectivamente. Por lo tanto, se confirma la presencia de cepas con gran capacidad antagónica frente a estos importantes patógenos de trigo y cebada, dentro de las distintas especies de *Trichoderma* analizadas, evidenciando que la cepa en sí es más importante que la especie respecto a la capacidad de antagonizar a los patógenos evaluados. Estos resultados permiten concluir que cuando se manejan poblaciones nativas el objetivo de manejo debe ser enfocado a aumentar la densidad poblacional de *Trichoderma* spp. más que a una determinada especie.

TCB_020 PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN PÉPTIDO CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PRODUCIDO POR LA CEPA *Pseudomonas fluorescens* CFBP2392.

Riera, Nadia¹; Balsa, Natalia²; Arias, Alicia¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana IIBCE (Uruguay); ² Laboratorio de Ecología Microbiana IIBCE, Sección Bioquímica Facultad de Ciencias (Uruguay)
nadiarierafara@gmail.com

El control biológico en la agricultura es una práctica que se basa en la introducción de microorganismos vivos con el fin de controlar patógenos que afectan el crecimiento vegetal. Las *Pseudomonas fluorescens* han sido ampliamente estudiadas como agentes de biocontrol ya que actúan como promotoras del crecimiento vegetal y pueden tener varios mecanismos para suprimir las enfermedades de plantas. Dentro de estos mecanismos se destacan la competición por hierro, la antibiosis, la producción de enzimas líticas y la degradación de factores virulentos. La cepa *Pseudomonas fluorescens* CFBP2392 ha mostrado tener actividad como agente de biocontrol ya que suprime la enfermedad de root rot inducida por *Rhizoctonia solani* en tomate, disminuyendo la infección e interviniendo positivamente en el desarrollo de raíz y tallo. Anteriormente se han realizado estudios sobre esta bacteria para identificar y aislar los compuestos implicados en su actividad biocontroladora los cuales muestran que no produce ninguno de los antibióticos más caracterizados dentro del género *Pseudomonas* (como floroglucinol, pirrolnitrina, pioluteorina ni fenazinas).

El objetivo de este trabajo es purificar y caracterizar un metabolito con actividad antifúngica producido por la cepa *Pseudomonas fluorescens* CFBP2392. Para ello se eligió un organismo blanco para comprobar la actividad antagonista del metabolito, se seleccionó un medio de cultivo apropiado para maximizar su síntesis, y se evaluó un protocolo de purificación del compuesto. La elección del organismo blanco se realizó mediante ensayos de antagonismo *in vitro* de *Pseudomonas fluorescens* contra diferentes microorganismos. Los ensayos mostraron que esta cepa inhibe

el crecimiento de *Clavibacter michiganensis*, *R. solani*, *Alternaria* sp., *Fusarium oxysporum* y *Pythium debaryanum* (en los últimos dos casos dependiendo del medio de cultivo). La mayor actividad inhibitoria se observó contra un aislamiento de *R. solani* AG3. La selección del medio de cultivo se realizó comparando la actividad inhibitoria de la cepa de *P. fluorescens* frente al hongo *R. solani* en un medio de cultivo rico y varios medios sintéticos con el agregado de aminoácidos. Se comprobó que había una mayor actividad en un medio mínimo para *Pseudomonas* con cas aminoácidos y triptófano; la utilización de un medio sintético permitirá simplificar el proceso de purificación. Mediante extracción con acetato de etilo y cromatografía en capa fina (TLC) se identificó una fracción con actividad antifúngica. Actualmente se está ajustando su separación por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para lograr una pureza adecuada para su análisis espectroscópico.

Hoy en día se hace particularmente importante la identificación y el registro de nuevos antibióticos tanto para la industria agrícola como clínica. Estos compuestos apuntan a una mejora en el sector ambiental ya que pueden ser utilizados como una alternativa al uso de fungicidas químicos.

TCB_021 PRODUCCIÓN DE MICROESCLEROCIOS DE *Metarhizium anisopliae* PARA SU USO EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE INSECTOS DE SUELO.

Rivas Franco, Federico¹; Dini, Beatriz²; Alzugaray, Rosario³; Altier, Nora²

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (Uruguay); ² INIA (Uruguay); ³ INIA - La Estanzuela (Uruguay)
frivas@lb.inia.org.uy

La producción sustentable es una de las principales preocupaciones de los países agrícolas conscientes de los efectos de esta actividad sobre el ambiente y surge como consecuencia de la creciente demanda mundial del consumo de alimentos. En el Uruguay, el campo natural ocupa una superficie de 2.3 millones de ha. y es destinado a la alimentación animal para la producción de carne, leche y lana. Las larvas del "bicho torito", *Diloboderus abderus*, causan daños en cereales de invierno y gramíneas forrajeras estando adaptadas a un ambiente estable como la pradera natural. El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, bajo determinadas condiciones de cultivo, es capaz de producir estructuras de resistencia conocidas como esclerocios, las que presentan interés para el control de insectos de suelo. El objetivo de este estudio fue determinar en cepas nativas de *M. anisopliae*, obtenidas de larvas de *D. abderus*, el potencial de producción de estas estructuras. La mayoría de las cepas estudiadas en condiciones de cultivo líquido produjeron microesclerocios al cabo de 6 días y a diferencia de estudios anteriores en caldo Dextrosa Sabouraud no se observaron blastosporas. Los valores de biomasa obtenidos entre las cepas fueron similares, mientras que se diferenciaron en la cantidad de microesclerocios producidos. Estos, una vez filtrados, fueron capaces de producir micelio y conidios a 24 °C en agar - agua así como en suelo estéril humedecido luego de 120 y 96 hs de incubación, respectivamente. El tratamiento de los microesclerocios con radiación UV-C (280 nm) resultó en una marcada disminución de la conidiogénesis; sin embargo, aún fueron capaces de producir micelio y conidios a partir de la superficie que no recibió radiación directa. En estudios de patogenicidad en larvas de *D. abderus* se determinaron valores de patogenicidad de 40 a 80%, dependiendo de la cepa, concentración de conidios aplicada y tiempo de evaluación. El uso de hongos entomopatógenos nativos para su utilización en estrategias de control biológico valoriza la biodiversidad microbiana naturalmente presente en los ecosistemas. Estos representan una herramienta fundamental en la agricultura sustentable y permite a los países que la aplican garantizar la inocuidad de los alimentos, proteger el ambiente y además, diferenciar sus productos en el mercado internacional. En este trabajo se identificaron al menos dos cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* con potencial uso como agentes de control de insectos de suelo por presentar los mayores valores de patogenicidad, producción de microesclerocios y de conidios.

Agradecimientos: a Mark Jackson (Crop Bioprotection Research Unit, National Center for Agricultural Utilization Research, USDA - ARS, Peoria, Illinois) por el asesoramiento brindado.

TCB_022 THE CONTRIBUTION OF *Pseudomonas chlororaphis* SUBSP. *aurantiaca* SR1 IN IMPROVING CROP PRODUCTIVITY. MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED IN HEALTHY

Rosas, Susana Beatriz¹; Pastor, Nicolas¹; Guinazu, Lorena¹; Rovera, Marisa¹

¹ Fac Cs Exactas Fco Qcas y Nat Univ Nacional de Río Cuarto (Argentina)
srosas@exa.unrc.edu.ar

The rhizospheric area supports large and active microbial populations capable of exerting beneficial, neutral, or detrimental effects on plant growth. The importance of rhizosphere microbial populations for maintenance of root health, nutrient uptake, and tolerance of environmental stress is now recognized. These beneficial microorganisms

can be a significant component of management practices to achieve the attainable yield, which has been defined as crop yield limited only by the natural physical environment of the crop and its innate genetic potential

Pseudomonas aurantiaca SR1 is able to colonize different root-systems crops, maintaining an appropriate population in rhizospheric area and promotes an increment of the root and shoot weight in alfalfa, soybean, wheat, sunflower, maize among others. *P. aurantiaca* SR1 colonized the root systems of the crops and it persisted at appropriate population densities. It also showed a significant plant growth-promoting effect that was reflected in the yield. Another relevant finding was that the crops, when inoculated with *P. aurantiaca* SR1, presented higher yields with fertilization doses lower than those conventionally applied. This indicated its potential use as a reasonable alternative for crop production, with a minimization of the ecological impact

It does not affect nodulation or Nitrogen Biological Fixation. It behaves as NPR (Nodulation promoting rhizobacteria) in alfalfa and soybean and was isolated as endophyte in wheat, soybean, sunflower and maize.

This strain mobilizes nutrients and produces indol acetic acid (IAA) these mechanisms could be contributing to the observed increase in growth parameters.

The increase in the quality of the microflora present in agricultural soils through the incorporation of organisms selected for their functions in diverse processes is an alternative that contributes to the sustainability of the agroecosystems.

Our results suggest that inoculation with *Pseudomonas aurantiaca* SR1 can potentially improve crop productivity, reducing the need for urea fertilizers and helping to mitigate the inorganic nitrogen pollution of surface and ground waters. The understanding of the mechanisms by which *P. Aurantiaca* SR1 promotes plant growth, together with taxonomic studies on *P. aurantiaca* reclassification as *P. chlororaphis*, will contribute to its formulation.

The strain produces such signals acyl homoserine lactones (AHL's).

P. chlororaphis subsp *aurantiaca* SR1 is an excellent biocontrol agent of fungal plant pathogens

PCR assays were carried out to detect *phlD* and *phz*, genes involved in the biosynthesis of 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) and phenazine-1-carboxylic acid (PCA), respectively. Also, PCR assays involving the specific primers to detect *prnD* and *pltC*, genes encoding the production of pyrrolnitrin (PRN) and (PLT), respectively, were performed as described by De Souza and Raaijmakers (2003). *Pseudomonas* sp. Phz24 (producer of PRN and PCA) and *P. fluorescens* CHA0 (producer of DAPG, PRN and PLT) were used as positive controls.

Additionally, the detection of *hcnAB* genes (involved in the biosynthesis of HCN synthetase) was performed by PCR using the primers PM2-F (5'-TGGCGCATGGGCGCATTGCTGCCTGG-3') and PM2-R (5'-CGCTCTTGATCGCAATTGCAGGC-3') (Svercel *et al.*, 2007). The double strand sequencing was performed by custom service from MACROGEN.

TCB_023 CAPACIDAD ANTAGÓNICA DE CEPAS DE *Rhizobium* FRENTE A *Alternaria solani*, *Fusarium* SP. Y *Rhizoctonia solani*, BAJO CONDICIONES *IN VITRO*.

*Santillana Villanueva, Nery Luz*¹; *Zúñiga Dávila, Doris*²

¹ Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga-Ayacucho-Perú (Perú); ² Universidad Nacional Agraria La Molina-Lima-Perú (Perú)
nerysantillana@yahoo.es

La investigación se realizó con el objetivo de evaluar la capacidad antagónica de 19 cepas de *Rhizobium* aisladas de *Vicia faba* L. y *Pisum sativum* macrocarpum, frente a *Alternaria solani*, *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia solani*, hongos fitopatógenos procedentes del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga- Ayacucho. El experimento se realizó de acuerdo a protocolos descritos por Carr (2004). Se utilizó dos repeticiones por tratamiento y un control que consistió sólo de crecimiento fúngico. Las placas se incubaron a 28°C durante 15 días. Se consideró presencia de actividad antagónica, cuando se observó la inhibición del crecimiento fúngico frente a la línea de crecimiento bacteriano, por lo tanto menor desarrollo fúngico, que se verificó al medir el radio de la colonia fúngica. Al realizar el análisis de varianza del radio de colonias de *Alternaria solani* y *Fusarium* sp. se observó diferencias significativas entre cepas. Mediante la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P<0.05), las cepas de *Rhizobium* PVF01, PVF09, PEPSM12, PEPSM15 y PEPSM16 presentaron diferencias significativas frente al control. Dichas cepas inhibieron el crecimiento de *Alternaria solani* entre 31 y 49%. La prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P<0.05), demostró que las cepas de *Rhizobium* PVF02, PVF03, PVF05, PVF07, PVF08, PVF11, PEPSM12, PEPSM14, PEPSM15, PEPSM17 y PEPSM18 presentaron diferencias significativas frente al control, dichas cepas inhibieron el crecimiento de *Fusarium* sp. entre 28 y 43%. Ninguna de las cepas de *Rhizobium* inhibió el crecimiento de las colonias de *Rhizoctonia solani*; después de 15 días de incubación, todos los tratamientos presentaron crecimientos similares al control. Los resultados obtenidos muestran que los rizobios son también capaces de inhibir el crecimiento de hongos por lo que pueden ser usados como agentes potenciales de biocontrol contra hongos fitopatógenos.

TCB_024 EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA SISTÉMICA POR UNA RIZOBACTERIA NATIVA, COMO ESTRATEGIA PARA LA PROTECCIÓN CONTRA FITOPATÓGENOS FÚNGICOS DE MANÍ.

*Tonelli, María Laura*¹; *Taurian, Tania*¹; *Argüello, José*²; *Fabra, Adriana*¹

¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² Worcester Polytechnic Institute (Estados Unidos)
mtonelli@exa.unrc.edu.ar

La Resistencia Sistémica Inducida resulta de la respuesta producida por la planta a compuestos sintetizados por bacterias inductoras. Este mecanismo de defensa se caracteriza por la generación de un estado de "priming" en el cual las respuestas relacionadas a la defensa vegetal son inducidas con mayor rapidez y/o eficiencia luego del ataque de un patógeno, resultando en un incremento de la cantidad y/o actividad de componentes celulares como aquellos involucrados en la síntesis de fitoalexinas, lignina y suberina. Estos compuestos están formados por fenilpropanoides en cuya síntesis está involucrada la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL).

Los objetivos planteados en este trabajo fueron evaluar si el sistema de defensa de maní es inducido sistémicamente, disminuyendo la severidad del marchitamiento causado por *Sclerotium rolfsii* y determinar el estado de "priming" en plantas inducidas, mediante el análisis de la actividad y expresión de la enzima PAL.

Las raíces de plántulas de maní se separaron en dos tubos a los que se les agregó medio Hoagland (Hoagland, 1950) agarizado al 0,6%. Una de las partes del sistema radical fue inoculada con *Bacillus* sp. CHEP5 y luego de una semana, la parte restante se inoculó con *S. rolfsii*. Dos semanas posteriores a la inoculación con el fitopatógeno se evaluó la severidad de la enfermedad y se determinó en hojas la actividad PAL de acuerdo a la metodología de Paynet y col. (1971). La expresión de *pal* se determinó por PCR en Tiempo Real.

El peso seco radical/aéreo, longitud radical/aérea y el contenido de clorofila determinados fueron superiores en plantas co-inoculadas con *Bacillus* sp. CHEP5 y *S. rolfsii*, en comparación con plantas inoculadas sólo con el patógeno. La actividad de PAL aumentó en las plantas de maní inoculadas con *B. sp.* CHEP5, aún en presencia del fitopatógeno. Si bien en plantas tratadas sólo con *S. rolfsii* se registró un aumento en la actividad de PAL, éste fue menor al determinado en plantas co-inoculadas con el biocontrolador y el patógeno, lo cual indicaría un efecto de "priming" desencadenado por inducción de la bacteria biocontroladora. La medición del nivel de expresión de *pal* mostró que éste se incrementa en plantas inoculadas sólo con el patógeno. Sin embargo, no permitió confirmar a nivel de regulación transcripcional que *Bacillus* sp. CHEP5 induzca el fenómeno de "priming", probablemente debido a que participan en el mismo otras isoformas enzimáticas diferentes a la codificada por el gen estudiado o a una regulación postranscripcional del producto del mismo.

En conclusión, maní mostró ser una planta susceptible de inducir sistémicamente su respuesta de defensa, mecanismo que sería efectivo en disminuir la severidad de la enfermedad producida por *S. rolfsii*. Además, la resistencia sistémica inducida por *Bacillus* sp. CHEP5 produciría en la planta un estado de "priming", resultando en el incremento de la actividad de PAL. Subsidios: CONICET, SECyT-UNRC, MinCyT Córdoba, Comisión Fulbright.

TCB_025 DISEÑO DE MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE *Leucosporidium Scottii*, LEVADURA PSICRÓFILA BIOCONTROLADORA DE *P. Expansum* EN MANZANAS.

*Labadie, Vanessa*¹; *Bentancur, Oscar*²; *Vero, Silvana*¹

¹ Facultad de Química. Universidad de la República (Uruguay); ² Facultad de Agronomía. Universidad de la República (Uruguay)
svero@fq.edu.uy

Las enfermedades de postcosecha constituyen una importante causa de pérdidas de fruta, siendo *Penicillium expansum* el principal patógeno. Como alternativa a la utilización de fungicidas químicos se han planteado estrategias de control biológico. Se ha aislado, identificado y seleccionado 1 cepa de levadura antagonista capaces de controlar enfermedades poscosecha de manzana lográndose niveles de protección de hasta 90%. El objetivo del presente trabajo es optimizar las condiciones de producción en medio líquido, de la levadura seleccionada.

En primer lugar se determinó temperatura (28°C) y pH óptimo (6.4) de crecimiento. Se estudió mediante auxanograma los sustratos carbonados y nitrogenados que dichas levaduras asimilan. Para los ajustes de composición del medio líquido se utilizó glucosa como fuente de carbono y cloruro de amonio como fuente de nitrógeno y las concentraciones utilizadas fueron las que se corresponden a la relación estequiométrica de la composición molecular de la biomasa, considerando que se utiliza un 50 % de la glucosa para energía y 50% para formación de biomasa. Se variaron también las concentraciones de glucosa manteniendo la proporción estequiométrica determinándose la concentración mínima inhibitoria (10%). Se probó el agregado de extracto de levadura en diferentes concentraciones para determinar la incidencia de vitaminas en el crecimiento. A su vez se estudió la influencia de la agitación en el rendimiento final. Los resultados mostraron que las fuentes de C y N estaban en exceso, y que el oxígeno disuelto era el reactivo limitante.

TCB_026 PRÁCTICAS AGRONÓMICAS QUE GENERAN AMBIENTES MÁS ADECUADOS PARA REALIZAR INOCULACIONES CON *Trichoderma* EN SISTEMAS AGRÍCOLAS

Villar, Andrés¹; Pérez, Carlos¹; Ernst, Oswaldo¹;

Palladino, Cintia¹

¹ Facultad de Agronomía (Uruguay)

hvillar@fagro.edu.uy

La agricultura Uruguaya ha transitado en los últimos años por un proceso de modificaciones estructurales en su sistema de producción, que han resultado en un aumento de las enfermedades causadas por patógenos necrótrofos. Concomitantemente, se ha incrementado el uso de fungicidas. Varios estudios han demostrado que el biocontrol de las enfermedades mediante el manejo de la población de microorganismos antagonistas es una herramienta eficaz para reducir el inóculo de patógenos. El objetivo del presente trabajo fue identificar ambientes que favorezcan la población de *Trichoderma* spp., ya que son en ellos donde las inoculaciones con una cepa antagonista tienen mayor probabilidad de éxito. Se cuantificó la población de *Trichoderma* spp. en los suelos y en los rastrojos de un experimento que incluye seis sistemas agrícolas: dos en laboreo convencional, con pastura (LCc/p), y en agricultura continua con soja en verano y trigo en invierno (LCCsj); y cuatro en siembra directa, con pastura (SDc/p), en agricultura continua con soja en verano y trigo en invierno (SDCsj), en agricultura continua con maíz en verano y trigo en invierno (SDCmz), y agricultura continua con soja en verano y sin cultivo de invierno (SDCsj s/inv). La población de *Trichoderma* spp. se cuantificó en el otoño 2010 mediante el método de recuento en placa. Los resultados muestran que en los sistemas en siembra directa la población de *Trichoderma* spp. fue significativamente mayor en relación a los sistemas en laboreo convencional (SD $\sqrt{144}$ vs. LC $\sqrt{59}$ ufc/g de suelo y SD $\sqrt{805}$ vs. LC $\sqrt{431}$ ufc/m² de rastrojo). A su vez, los sistemas que contienen mayor proporción de gramíneas anuales en sus rotaciones, fueron los que presentaron mayor densidad poblacional del hongo en el suelo (SDCmz $\sqrt{172}$, SDCsj $\sqrt{148}$, SDc/p $\sqrt{140}$, LCc/p $\sqrt{107}$, SDCsj s/inv $\sqrt{88}$, LCCsj $\sqrt{12}$ ufc/g), y en rastrojo (SDCmz $\sqrt{3802}$, SDCsj $\sqrt{1234}$, LCc/p $\sqrt{538}$, LCCsj $\sqrt{377}$, SDc/p $\sqrt{324}$, SDCsj s/inv $\sqrt{169}$ ufc/m₂). La población de *Trichoderma* spp. se correlacionó positivamente con el contenido de materia orgánica (MO) del suelo ($r=0.46$). En conclusión, los sistemas agrícolas en siembra directa que contienen un componente importante de gramíneas anuales en sus secuencias, serían los que generan un ambiente más favorable para la población de *Trichoderma* spp. en el suelo y en los rastrojos. Es esperable que en estos ambientes la reducción del inóculo de los patógenos sea mayor, en el caso de eventuales inoculaciones con cepas de *Trichoderma*

12:30 a 14:00

Almuerzo

14:00 a 14:30

III Taller AMCB

Continuación Sesión de posters

14:30 a 14:45

III Taller AMCB

Registro de AMCB en Uruguay

Expositor: *Fanny da Rosa*

14:45 a 15:45

III Taller AMCB

Taller (1) Oportunidades y limitantes de uso de AMCB de insectos-plaga

Moderador: *Andrés France*

15:45 a 16:45

III Taller AMCB

Taller (2) Oportunidades y limitantes de uso de AMCB de enfermedades

Moderador: *Pedro Mondino*

16:45 a 17:00

Pausa

17:00 a 17:20

III Taller AMCB

Colecciones de cultivos microbianos: iniciativa LATU

Expositor: *Ana María Maquieira*

Colecciones de cultivos microbianos: iniciativa SUFIT

Expositor: *Mercedes Peyrou*

17:20 a 18:20

III Taller AMCB

Taller (3) Colecciones: Gestión, conservación, control de calidad

Moderador: *Lyliam Loperena*

18:20 a 19:00

III Taller AMCB

Plenaria y conclusiones



TALLER BIOFAG

Microorganismos promotores del crecimiento vegetal, sostenibilidad y medio ambiente.

5 de Setiembre de 2011.



TALLER BIOFAG

Microorganismos promotores del crecimiento vegetal, sostenibilidad y medio ambiente.

5 de Setiembre de 2011.



PRÓLOGO

Desde el año 2003, la red BIOFAG-Fertilizantes Biológicos para la Agricultura y el Medio Ambiente, ha venido desarrollando diversas actividades (workshops, talleres, cursos, intercambios científicos) con la finalidad de fomentar la interactividad entre los distintos grupos de investigación y empresas de inoculantes en la región Iberoamericana, contribuyendo así a la difusión y puesta en valor de la práctica de la biofertilización en toda la región.

En un ejemplo más de estas actividades coordinadas a nivel regional, el taller *“Microorganismos promotores del crecimiento vegetal, sostenibilidad y medio ambiente”* pretende servir como foro de intercambio de experiencias y discusión sobre tres aspectos fundamentales: la diversidad de microorganismos promotores del crecimiento vegetal, y la cada día más amplia variedad de cultivos que se benefician de la biofertilización; la exigencia ineludible de que los inoculantes comercializados sean de máxima calidad y vengan avalados por estrictos controles que garanticen su eficacia; y la necesidad de cuantificar la contribución de la biofertilización a la sustentabilidad de los agrosistemas en particular y a la conservación del medio ambiente en general, así como su positivo impacto sobre el bienestar de nuestras sociedades.

Durante el taller, también se realizará una reflexión pública y una mirada futurista de los retos a los que se enfrenta la biofertilización para lograr convertirse en la tecnología que permita aprovechar al máximo nuestro principal recurso natural vivo, los microorganismos, para mejorar la calidad de vida de nuestras sociedades.

Agradecemos su participación a los ponentes invitados y confiamos en que todos los asistentes participen en forma activa durante el desarrollo del mismo.

Juan Sanjuan
Coordinador Red BIOFAG

Carlos Labandera
Coordinador Nacional

Lunes 5

08:00 a 18:00

Acreditaciones

08:30 a 09:00

Taller BIOFAG

Apertura

*Juan Sanjuán
Carlos Labandera*

09:00 a 09:30

Taller BIOFAG

Conferencista: *Natalia Martínez (Uruguay)*

TBF_001 ADAPTACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN SISTEMA PARA LA EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL DE LAS ACTIVIDADES RURALES - EIAR.

Martínez, Natalia¹; Rivas, Noelia¹
¹ MGAP- Uruguay (Uruguay)
nmartinez@mgap.gub.uy

El sistema EIAR surge de un trabajo interinstitucional orientado a la adaptación y posterior validación, de acuerdo a las necesidades del Proyecto Producción Responsable y del país, del Modelo APOIA NOVO RURAL desarrollado por EMBRAPA Medio Ambiente (Brasil). El presente sistema permite evaluar las sustentabilidad de los emprendimientos agropecuarios mediante la utilización de variables e indicadores establecidos, e identificar en forma objetiva, los puntos críticos para la corrección del manejo y las ventajas comparativas de las actividades del sistema de producción para el desarrollo sustentable. Consiste en un conjunto de matrices de ponderación montadas sobre una plataforma MS-Excel, las cuales mediante una expresión matemática permiten analizar las sustentabilidad social, ambiental y económica a través de 57 indicadores agrupados en 5 dimensiones: ecología del paisaje, calidad de los compartimentos ambientales (agua, suelo, aire), valores socioculturales, valores económicos y gestión y administración. Se establecen dos situaciones en el tiempo referidas a antes y después de la implantación de una nueva actividad en el predio, un cambio tecnológico o el inicio de la actividad. La información es resumida expresando tres situaciones: situación ideal a la que asigna el valor máximo 1.0, situación de sustentabilidad cuyo valor el sistema lo define como 0.7, en función a referencias bibliográficas y estudios de casos, y la situación en la que se encuentra el sistema productivo bajo evaluación. Los resultados se expresan mediante los índices de impacto ambiental de la actividad para cada dimensión y un índice final que las integra, cada uno de los cuales presenta una representación gráfica de fácil interpretación. En el proceso de validación se aplicó dicha herramienta en dos establecimientos con actividades contrastantes uno ganadero extensivo y otro con producción hortícola intensiva. En base a los resultados obtenidos en la validación se procedió a realizar los ajustes a la herramienta. De una primera aplicación del EIAR en predios ganaderos y lecheros vinculados al Proyecto Producción Responsable surge que las dimensiones: calidad de los compartimentos ambientales - aire, valores socioculturales y valores económicos se destacan con valores promedios por encima de la línea de sustentabilidad (0.7) para ambos rubros. Por el contrario aquellas con valores promedios por debajo de la línea de sustentabilidad (0.7) fueron ecología del paisaje y gestión y administración. Dentro de ecología del paisaje los indicadores que impactan en mayor medida en el bajo valor de sustentabilidad son: diversidad productiva, diversidad del paisaje y regeneración de áreas degradadas, en cuanto a los indicadores de gestión y administración se destacan gestión de insumos químicos, de residuos y condiciones de comercialización. Es prioridad para el Proyecto Producción Responsable continuar con la aplicación de esta herramienta con el fin de poder determinar para una muestra de beneficiarios el impacto ambiental que el Proyecto ha tenido sobre los recursos naturales y la biodiversidad en establecimientos agropecuarios.

09:30 a 09:55

Taller BIOFAG

Conferencista: *Roberto Díaz (Uruguay)*

TBF_002 IMPORTANCIA DE LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DEL NITRÓGENO EN LA RESTAURACIÓN DE CARBONO EN LOS SUELOS Y SU IMPACTO EN LA PRODUCTIVIDAD Y SOSTENIBILIDAD

Roberto, Díaz¹
¹ INIA (Uruguay)
rdiaz@inia.org.uy

El proceso de intensificación de la producción en el Cono Sur de AL se caracteriza por un incremento sustantivo de la agricultura de granos liderada por el cultivo de soja. Ese crecimiento se manifiesta en mayor ocupación de suelos agrícolamente más marginales dentro de los establecimientos y por avance de la frontera agrícola a nuevas regiones con suelos más frágiles. En los últimos 10 años se ocuparon en la región 25 millones de hectáreas de nuevas tierras agrícolas. Inevitablemente la ganadería también se concentró en menos área desplazándose parcialmente hacia zonas de menor productividad. Diversos estudios dan evidencia muy robusta acerca de la progresiva pérdida de carbono de los suelos en todos esos sistemas de producción. La pérdida de carbono orgánico (CO) del suelo tiene enormes consecuencias en la pérdida de productividad, principalmente cuando comienza a afectar la condición física del suelo. Ese tipo de pérdidas han sido difíciles de percibir y cuantificar aún para la investigación por diversos efectos confundidos. El diseño de sistemas de producción que contemplen un balance de CO en equilibrio o con ganancia es absolutamente dependiente de un balance paralelo de nitrógeno (N) similar. La capacidad de fijar CO en el suelo requiere del suministro de N al sistema pues para la enorme mayoría de los ambientes la materia orgánica del suelo tiene una relación casi estequiométrica entre C y N. El éxito y la sustentabilidad futura de los sistemas productivos van a estar fuertemente afectados por dos condicionantes que la ciencia del presente nos advierte: el cambio climático y el agotamiento de los hidrocarburos como fuente económica de energía. En este escenario de valorización de la energía la FBN cobra valor estratégico por el fuerte vínculo del precio de los hidrocarburos y el precio de los fertilizantes nitrogenados. Los sistemas de producción de los ambientes más cálidos y con déficits hídricos son los más expuestos a la degradación del carbono orgánico (CO) del suelo. Ellos son en general los de menor productividad y los que menos justifican el empleo de fertilizantes nitrogenados. El semiárido argentino- chileno, el Gran Chaco los suelos pampeanos superficiales y parte del Cerrado son regiones amenazadas por la expansión agrícola y con evidencia de degradación de suelos y pasturas. Es en ese tipo de sistemas donde es más necesario fortalecer el desarrollo tecnológico de la FBN y su empleo eficiente principalmente con fondos públicos, ya que el sector privado difícilmente esté dispuesto a I&D en zonas de poca productividad. Entre las problemáticas más relevantes a abordar por la investigación se destacan: 1) la adaptación de leguminosas a ambientes megatérmicos y semiáridos. Si bien existen muchos antecedentes de evaluación de especies y cultivares no parecen haber sido siempre acompañados del respaldo microbiológico necesario ni de los esfuerzos de domesticación de las nuevas especies. 2) La integración de la pecuaria a sistemas agrícolas para mejorar sus sustentabilidad tendrá un factor crítico en el empleo del N de pasturas por cultivos de grano en la rotación y su empleo eficiente requiere de investigación para comprender su dinámica y diseñar tecnologías de mayor eficiencia de uso del nitrógeno fijado biológicamente.

09:55 a 10:20

Taller BIOFAG

Conferencista: *Roberto W. Racca (Argentina)*

TBF_003 IMPORTANCIA DE LA FBN EN EL CULTIVO DE SOJA Y PRINCIPALES FACTORES AMBIENTALES QUE LA CONDICIONAN.

Racca, Roberto W.¹
¹ INTA-CONICET (Argentina)
rracca@correo.inta.gov.ar

Con las colaboraciones de: D.Collino, A. Perticari, N. Gonzalez, H.R. Lascano, M. Melchiorre, M.de Luca, C. Piccinetti y N. Muñoz. El establecimiento de la simbiosis fijadora de nitrógeno entre una leguminosa y su bacteria específica, es el resultado de una compleja serie de eventos coordinados de comunicación, reconocimiento y diferenciación finamente regulados, en donde el cultivar, la cepa y el ambiente interaccionan de manera constante, y con distinta cuantía, a lo largo de la ontogenia de la planta. Existe una profusa información fisiológica, bioquímica y genómica referente a la simbiosis entre cepas específicas de rizobios y distintos cultivares de leguminosas bajo diversas condiciones. Sin embargo, el estudio de la magnitud del proceso de FBN a campo y su relación con los rendimientos, ha sido menos desarrollado dado la complejidad de las interacciones que se establecen entre la planta, la bacteria y su ambiente. En esta línea, y durante las últimas cuatro campañas, realizamos en INTA

un conjunto de ensayos en 30 localidades ubicadas en diferentes zonas productoras, a fin de evaluar los principales factores del cultivo y del ambiente que más explicarían la variabilidad de las magnitudes de N aportado desde la atmósfera (FBN). Se estableció un mapa del área sojera con zonas homogéneas para la FBN. Los resultados indican que existe una fuerte interacción genotipo/ambiente y que los principales factores edafoclimáticos que modulan la expresión funcional del sistema de FBN fueron, de manera positiva: el contenido de agua útil entre siembra y R6; el contenido de fósforo y azufre en la capa superficial de suelo a la siembra; la temperatura media y la suma de radiación recibida entre siembra y R1, y la relación carbono orgánico/nitrógeno total a la siembra. En tanto influyen negativamente el contenido total de N; NO₃⁻ y las bajas temperaturas a la siembra.

El mapa obtenido permitió establecer una amplia área homogénea central, respecto al porcentual de N derivado de la atmósfera, que abarca la zona núcleo de cultivo, en donde el aporte de N por FBN fue relativamente constante, con valores que fluctuaron entre el 46 y 53% del total del N acumulado y áreas perimetrales con aportes muy variables que van de un 23 a un 72% de N derivado de la atmósfera.

Por otra parte, y dado que se reconoce a la FBN como un proceso particularmente sensible a las perturbaciones ambientales, se estudia como éstas afectan al sistema nodular con distinta magnitud según el momento en que ocurren. Se analiza, de manera primordial, el rol de las Especies Activas del Oxígeno (EAO) como una respuesta temprana común en la interacción de la planta con las bacterias y su papel fundamental en el establecimiento o rechazo a la posibilidad simbiótica.

Se analizan, además, algunas prácticas de manejo de siembras a favorecer la FBN en el cultivo de soja.

10:20 a 10:45

Taller BIOFAG

Impacto de la FBN de las leguminosas forrajeras en los sistemas productivos de Uruguay

Conferencista: *Mónica Rebuffo* (Uruguay)

10:45 a 11:00

Pausa

11:00 a 11:25

Taller BIOFAG

Conferencista: *Emiliano Ferreira* (Uruguay)

TBF_004 BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO EN EL CULTIVO DE ARROZ.

Zorrilla, Hernán¹; Ferreira, Emiliano¹

¹ ASINAGRO (Uruguay); ² ASINAGRO
patofer@adinet.com.uy

Durante las últimas cinco zafas la consultora Asinagro, integrada por los autores de este trabajo, condujo ensayos parcelarios en campos de productores de arroz en convenio con la empresa Lage & Cía, para el estudio del efecto de promotores del crecimiento sobre la producción del cultivo. En Uruguay donde toda el área del cultivo se realiza con irrigación, se obtienen rendimientos muy altos, concretamente en esta última zafra se alcanzaron los 8500 kg/há promedio, siendo de los más destacados para arroces de clima templado. Otra característica sobresaliente es que el cultivo en nuestro país utiliza más nitrógeno que las cantidades que normalmente el productor le aporta a los suelos. Estas consideraciones fueron punto de partida de diversos estudios para determinar la posible utilización de fuentes naturales de aporte de nitrógeno. El primer ensayo parcelario (zafra: 2005 - 2006) conducido por Asinagro se instaló en una chacra de arroz del departamento de Treinta y Tres. Se ejecutó un diseño de parcelas divididas donde la parcela mayor era el tratamiento de la semilla (inoculada con Graminosisoil - L y testigo sin inocular) y las parcelas menores era de dosis de coberturas nitrogenadas (N = 0, 28 y 46 kg/há). En el tercer año de investigación (zafra 2008 - 2009) se incluyó el tratamiento de inoculación de la semilla con Endo Rice, un inoculante líquido a base de una cepa del género *Herbaspirillum* spp. desarrollado por Lage & Cía específico para el cultivo de arroz. Dicha cepa fue seleccionada a partir de aislamientos realizados de plantas de arroz de la región Este de Uruguay. El manejo del nitrógeno en las coberturas tanto en dosis como en momentos de aplicación se mantuvo incambiado. Si bien se realizaron muestreos de diversas características agronómicas de interés, los resultados del rendimiento son los más valiosos para este tipo de ensayos a campo donde el manejo del cultivo es el propio del productor. El resultado más frecuente a lo largo de los años fue el de respuesta positiva a la inoculación con Graminosisoil - L del orden del 5 a 6% en la producción, sobre el testigo sin inocular. Por otra parte, mientras en el testigo sin inocular generalmente la respuesta se observaba hasta la dosis más alta de nitrógeno, en el caso de los tratamientos con Graminosisoil - L se lograba el máximo rendimiento con la dosis intermedia de nitrógeno, lo cual representa una importante ventaja en la economía de este nutriente. Con Endo Rice los resultados también fueron muy positivos, aunque

con mayor variabilidad entre años. A nivel de la respuesta promedio sobre el testigo sin inocular se observaron ventajas desde un 4 hasta un 15 % en la producción. Otro aspecto destacable y que difiere del resultado alcanzado con Graminosisoil - L, es que los mayores rendimientos se lograron con la dosis máxima de nitrógeno. Hoy con cinco años de buenos resultados en ensayos parcelarios y con algunas pruebas a pequeña escala en chacras de productores, esta tecnología encuentra el desafío de su validación a nivel comercial. La respuesta productiva es elocuente y la sostenibilidad del sistema asociada a una disminución de los niveles de fertilización nitrogenada es una ventaja que deberá ser confirmada. Por último consideramos fundamental el ajuste de la dinámica de inoculación de la semilla al momento de la siembra para no limitar por factores logísticos la posible adopción de una tecnología innovadora para el cultivo de arroz de Uruguay.

11:25 a 11:50

Taller BIOFAG

Microorganismos promotores del crecimiento vegetal. Maíz

11:50 a 12:15

Taller BIOFAG

Conferencista: *Verónica Massena Reis* (Brasil)

TBF_005 IMPORTÂNCIA DO USO DE INOCULANTES PARA CULTURAS DE INTERESSE AGRÍCOLA: EXEMPLO DO DESENVOLVIMENTO DO INOCULANTE PARA APLICAÇÃO EM CANA DE AÇÚCAR

Massena Reis, Verónica¹; de Barros Soares, Luis

Henrique¹

¹ Embrapa Agrobiologia (Brasil)

veronica@cnpab.embrapa.br

O Brasil é hoje o maior produtor mundial de açúcar, representando 46,5% de todo açúcar produzido no mundo e 45% do montante exportado. A produtividade tem crescido continuamente atingindo um recorde de aumento de 577% em 40 anos de produção. Atualmente a área plantada fica em torno de nove milhões de hectares, mas deve dobrar até 2015 para suprir a crescente demanda de etanol usado como combustível e também a crescente demanda por energia oriunda da queima do bagaço. Para manter os atuais ganhos de rendimento em consonância com o mercado, que exige controle de emissões de gases de efeito estufa, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma alternativa para a redução dos custos de produção. A manutenção da produtividade com o uso reduzido de fertilizantes nitrogenados é um desafio para os microbiologistas de solo. Em 2008 a Embrapa lançou um inoculante contendo cinco estirpes de bactérias diazotróficas isoladas da própria cultura e desenvolveu a sua aplicação desde os cultivos micropropagados (Reis et al., 1999), aplicação em colmos (cana-planta - Reis et al., 2009) e a cana-soca (cortes sucessivos anuais - Reis et al., 2010). Até o momento este inoculante foi aplicado em mais de 15 genótipos diferentes plantados em quatro regiões brasileiras num total de 10 ensaios de campo durante quatro anos consecutivos. Os resultados mostram que é possível utilizar o inoculante na cana-planta sem suplementação nitrogenada e com uma redução de 50% da dose na cana-soca. No experimento em soqueira foram observados incrementos na produtividade de colmos, acúmulo de N e houve resposta significativa em alguns atributos tecnológicos. A inoculação promoveu aumento na produtividade e a aplicação mecânica mostrou ser eficiente e rentável para o produtor. Os resultados demonstram a viabilidade da tecnologia para a cana-de-açúcar com ganhos em produtividade e principalmente ganhos ambientais. Agradecimentos: Ao CNPq (projeto MCT/CNPq/CT-Agro 558329/2009-8, Bolsa de Produtividade 1C) e a Faperj (Bolsa Cientista do Nosso Estado). REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; OLIVEIRA, A. L. M. Technical approaches to inoculate micropropagated sugar cane plants with *Acetobacter diazotrophicus*. *Plant and Soil*. v. 206, p. 205 - 211, 1999. REIS, V. M., PEREIRA, Willian, HIPOLITO, G. S. Método de inoculação de bactérias diazotróficas em cana-planta para avaliação da eficiência agrônoma. Comunicado Técnico 118. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. REIS, V. M., PEREIRA, Willian, HIPOLITO, G. S. Método de inoculação de bactérias diazotróficas em cana-soca para avaliação da eficiência agrônoma. Comunicado Técnico 117. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009.

12:15 a 12:40

Taller BIOFAG

Conferencista: *Nicolás Medina (Cuba)*

TBF_006 LA BIOFERTILIZACIÓN CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (HMA) COMO ALTERNATIVA SOSTENIBLE PARA LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA EN CUBA

Medina Basso, Nicolás¹; Riviera Espinosa, Ramón A.¹

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) (Cuba)

medinabasso@gmail.com

Para la mayoría de los países, la utilización de los biofertilizantes constituye una vía promisoría para enfrentar diferentes situaciones que afectan la producción agrícola actual y que se han ido agudizando con el transcurso de los años, tales como: el encarecimiento del costo de los fertilizantes minerales, el agotamiento de las cada vez más limitadas reservas naturales de nutrientes, las reducidas disponibilidades de abonos orgánicos y de otras fuentes nutricionales alternativas, y los efectos, actuales y potenciales, contaminantes del ambiente que se derivan de la utilización indiscriminada de agroquímicos en la agricultura. En tal sentido, la biofertilización solo resulta una necesidad para la producción agrícola, sino que constituye un elemento de gran importancia para el desarrollo de una agricultura científica, de futuro, económicamente balanceada y ecológicamente viable. A partir de estas premisas, diferentes grupos multidisciplinarios de investigación en Cuba han venido desarrollando programas de I&D dirigidos al aislamiento, caracterización, producción y uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), solos y combinados con otros microorganismos nativos del suelo, con efectos muy ventajosos sobre el crecimiento y la producción de las plantas cultivadas. Los resultados de la caracterización de las colecciones de cepas, del estudio de las relaciones ecológicas rizosféricas y de las interacciones planta-microorganismo, para diferentes condiciones agroecológicas, han permitido obtener diferentes formulaciones biofertilizantes así como sus tecnologías de producción, las cuales están disponibles comercialmente y han sido evaluadas y validadas exitosamente bajo diversas condiciones agrícolas, tanto nacionales como de otros países latinoamericanos, para casi todos los cultivos tropicales de importancia económica, tales como la caña de azúcar, el arroz, el café, el tabaco, el banano y el plátano, los granos (tanto cereales como leguminosas), las hortalizas, las raíces y tubérculos, los pastos y las flores y plantas ornamentales. Entre los avances obtenidos se encuentran la recomendación de cepas eficientes por tipo de suelo, de acuerdo a una baja especificidad cepa eficiente de HMA-cultivo, el establecimiento de sistemas de suministro de nutrientes para cultivos micorrizados, el manejo conjunto (coincubación) con otros biofertilizantes y bioestimuladores, el efecto de permanencia de inoculante en el suelo y su manejo en secuencias de cultivos, la integración de la biofertilización con HMA y el empleo de abonos verdes, la utilización de la tecnología de inoculación mediante recubrimiento para semillas y otros propágulos, todo lo cual ha conducido a disponer de las bases científico-técnicas para el manejo integral de biofertilización micorrízica en la producción agrícola. A los beneficios ya reconocidos de incrementar el aprovechamiento de los nutrientes del suelo y de los fertilizantes, de aumentar la tolerancia de las plantas a condiciones de estrés ambientales (hídrico, salinidad, metales pesados, etc.), de mejorar algunas propiedades físicas de los suelos y de incrementar los rendimientos de los cultivos, se adiciona recientemente un mayor grado de resistencia/tolerancia a estrés bióticos frente al ataque de determinados fitopatógenos. El uso en gran escala de los biofertilizantes micorrízicos, solos o en combinación con otras alternativas nutricionales, ha comenzado a tener un impacto global (económico, tecnológico y ambiental), siendo el primer esfuerzo nacional para lograr alcanzar la sostenibilidad en la agricultura.

12:40 a 14:00

Almuerzo

14:00 a 14:25

Taller BIOFAG

Conferencista: *Eliane Bangel (Brasil)*

TBF_007 MARCO LEGAL PARA INOCULANTES: IMPORTANCIA NA ADOÇÃO DO INSUMO

Villamil Bangel, Eliane¹

¹ Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária - FEPAGRO (Brasil)

eliane-bangel@fepagro.rs.gov.br

A necessidade mundial em diminuir a emissão de gás carbônico para atmosfera vem estimular a produção de inoculantes como uma medida de minimizar o efeito estufa e de melhoria ambiental por substituir, em parte ou totalmente, a aplicação de fertilizantes nitrogenados e de contribuir para o aumento do rendimento de diversas culturas. Os produtos inoculantes a base de bactérias fixadoras de nitrogênio para leguminosas, os rizóbios, foram os primeiros insumos agrícolas biológicos a serem disponibilizados aos agricultores e que, no caso da soja, proporcionaram um grande impacto de redução econômica de implantação da lavoura por permitir a substituição total da fonte nitrogenada na adubação. Isto foi possível devido ao desenvolvimento da pesquisa, da

indústria, da assistência técnica e do estabelecimento de legislação pertinente que buscou garantir a qualidade dos produtos comercializados. Estes produtos evoluíram em suas formulações para contemplar o avanço tecnológico da demanda de maximização da produtividade das culturas e de compatibilidade do emprego conjunto dos inoculantes com o tratamento de sementes (fungicidas, micronutrientes e pesticidas) assim como, para acompanhar a tecnificação de implementos e maquinários agrícolas. Por outro lado, outros micro-organismos foram estudados e sua eficiência agrônoma comprovada para obtenção de benefícios seja pela substituição de níveis de fertilizantes, por proteção dos cultivos da baixa disponibilidade hídrica no solo ou por outros fatores que promovem o desenvolvimento vegetal. Para atingir a validação destes benefícios oriundos do emprego dos produtos inoculantes, vários desafios foram conquistados nos diversos setores envolvidos (pesquisa, indústria e legislação) em prol do crescimento sustentável do agronegócio. A demanda crescente do sistema de produção orgânico, também, vem buscando nos inoculantes o suprimento e potencialização da absorção de nutrientes para atingir melhores rendimentos na produção agropecuária. Assim, seja na produção de cereais, pastagens, adubação verde, florestas ou de recuperação de áreas degradadas muitas pesquisas e inovação tecnológica deverão ser conquistadas com a utilização de inoculantes. Nesse contexto, os estudos iniciaram com a seleção de cepas mais efetivas dos micro-organismos, evoluíram para a formulação de inoculantes com comprovada eficiência agrônoma para os diferentes cultivos agrícolas, os quais foram regulamentados e fiscalizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O avanço tecnológico destes bioformulados com ampla variedade de especificações e finalidades tem exigido grandes esforços da pesquisa e dos órgãos regulatórios para o controle de qualidade dos inoculantes a fim de proporcionar ao produtor rural a garantia dos benefícios na exploração agrícola. Desse modo, o conhecimento do comportamento dos diferentes micro-organismos tanto em procedimentos laboratoriais como no processo industrial, assim como a adequação dos protocolos para a comprovação e validação da eficiência agrônoma dos produtos tem provocado desafios contínuos para os pesquisadores. Assim, a importância de um marco legal com normativas bem definidas e padronizadas entre os países comercializadores destes insumos agrícolas biológicos é fundamental para garantir que o agropecuarista obtenha uma produção de melhor qualidade e produtividade com redução de custos e sem agressão ao meio ambiente.

14:25 a 14:50

Taller BIOFAG

Conferencista: *Fabricio Cassán (Argentina)*

Conferencista: *Fernanda Gonzalez Fiqueni (Argentina)*

TBF_008 REDCAI: LA EXPERIENCIA ARGENTINA EN EL DESARROLLO DE UNA RED DE CONTROL DE CALIDAD DE INOCULANTES.

Cassán, Fabricio¹; Gonzalez Fiqueni, Fernanda²; Torresani, Silvia¹; Benitende, Silvia¹; Lett, Lina¹; Albanesi, Ada¹; Rossi, Alejandro³; Penna, Claudio¹; Perticari, Alejandro³

¹ Laboratorio de Fisiología Vegetal y de la Interacción planta-microorganismo. Departamento de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² Laboratorios Biagro SA (Argentina); ³ Laboratorio BPCV, IMYZA, INTA Castelar (Argentina)

fcassan@exa.unrc.edu.ar

La creciente demanda de materias primas de origen agrícola destinadas a abastecer los requerimientos alimentarios y energéticos mundiales, necesita de la aplicación de prácticas de manejo ambiental sustentables. Particularmente en la República Argentina, los productores agropecuarios reconocen que los inoculantes y otros productos de origen biológico destinados a la agricultura, desempeñan un papel central en la planificación de los insumos para un planteo agrícola conservacionista. La confiabilidad en la utilización de tales productos, se ha sustentado desde hace varios años en la tarea de investigadores, tecnólogos y empresas del sector, que en su conjunto, han contribuido en la generación de las bases para una correcta valoración de este tipo de productos. Sin embargo, para sostener y ampliar la confianza de los consumidores, se requiere de acciones complementarias destinadas a avanzar y mejorar las normas y procedimientos que regulan la calidad de tales productos. Es por ello que, en el año 2005, se conformó la Red de Control de Calidad de Inoculantes para la República Argentina (REDCAI) dentro de la División de Microbiología Agrícola y Ambiental (DIMAY) de la Asociación Argentina de Microbiología (AAM). La REDCAI tuvo como misión fundamental "crear un espacio de participación y discusión para profesionales relacionados con la evaluación de la calidad de inoculantes" y alguno de sus objetivos fundamentales fueron: (a) desarrollar protocolos comunes, precisos, simples y verificables para determinar la calidad de los inoculantes y (b) organizar una red de laboratorios de referencia, tanto del ámbito público como privado, para la aplicación de tales metodologías. Sabiendo que la implementación de una red de laboratorios es la herramienta que permite la validación objetiva de los procedimientos analíticos generados y consensuados de manera teórica, se decidió la creación del sistema INTERLAB en el año 2006. Los alcances de este mecanismo permitieron validar procedimientos de trabajo estandarizados por la REDCAI y monitorear la mejora continua de los analistas por la evaluación de ciertos indicadores obtenidos a partir del tratamiento estadístico de los resultados. Para ello, los profesionales

participantes de INTERLAB analizaron muestras de referencia utilizando un protocolo consensado y un diseño específico de evaluación provisto por la REDCAI. Informaron los resultados mediante un código que permitió asegurar la confidencialidad de los datos generados y con esta información se determinó la aptitud analítica de cada laboratorio, que posteriormente se informó mediante la generación de gráficos comparativos y la obtención de parámetros de repetitividad, reproducibilidad y el análisis del valor z. En la actualidad, el sistema INTERLAB cuenta con 40 laboratorios que participan regularmente de sus actividades y lleva realizadas 8 rondas de análisis con muestras de referencia, tanto líquidas como sólidas de inoculantes formulados con bacterias de los géneros *Bradyrhizobium* y *Azospirillum*. Por otro lado, se han generado muestras de referencia de inoculantes formulados con bacterias del género *Pseudomonas* y otras muestras destinadas al tratamiento de semillas, para su evaluación dentro de grupos específicos de trabajo. En tales grupos, se discuten, proponen y evalúan nuevos protocolos de control de calidad que son posteriormente elevados a la comisión coordinadora de la REDCAI para su consideración y evaluación a escala piloto. Finalmente, los protocolos aprobados en este ámbito, son evaluados de manera extensiva dentro del sistema INTERLAB.

14:50 a 15:50

Taller BIOFAG

Conferencista: *Alejandro Peticari* (Argentina)
Conferencista: *Solon C. de Araujo* (Brasil)
Conferencista: *Enrique Malcuori* (Uruguay)

TBF_009 FUTURO DOS MICROORGANISMOS NA AGRICULTURA - PONTO DE VISTA DAS EMPRESAS DE INOCULANTES.

*de Araujo, Solon C.*¹
¹ Stoller do Brasil Ltda. (Brasil)
solon@scaconsultoria.com.br

Pouco a pouco o mundo vai ficando assombrado por uma dura realidade: até onde poderemos crescer, seja no aumento da população, seja, em paralelo, no aumento de consumo? Nos últimos anos o crescimento da renda da população dos países emergentes vem aumentando a demanda por mais alimentos, especialmente por proteínas. Se por um lado isto é uma boa notícia, por outro alerta para a necessidade de um substancial incremento na produção de grãos e proteínas. A FAO estima a imperiosidade de aumentar a produção de alimentos em 70% a 100% até 2050. Até a metade do século passado o crescimento da produção se deu pela incorporação de novas áreas ao cultivo de grãos e à pecuária e pelo do uso intensivo de tecnologia na agricultura. Mas a partir de agora, todo o acréscimo na produção terá que ser feito pelo aumento na produtividade e não pela incorporação de novas áreas. O que fazer? Por um lado, a inadiável necessidade de elevar a produção de alimentos e, por outro, a impossibilidade ambiental de desmatar o que ainda resta de florestas e outros biomas naturais no mundo. O aumento da produção por área exigirá um maior uso de fertilizantes e defensivos, trazendo, também, os inconvenientes que estes produtos carregam consigo. Neste horizonte o resgate no uso de microrganismos deverá se transformar em uma ferramenta de grande valia, por permitir eliminar em certos casos e diminuir em outros, o uso de produtos químicos na agricultura. As principais condicionantes para isto são: Posicionamento técnico dos produtos biológicos, tirando a conotação de produtos "alternativos" e o viés ideológico, quase religioso, para o vetor tecnológico, de produtos modernos e que propiciem elevada produtividade. Posicionamento com mais ênfase nos aspectos de aumento de produtividade e rentabilidade do que propriamente nos aspectos ambientais. Forte investimento em P&D por parte da pesquisa oficial e das empresas privadas, desenvolvendo produtos que agreguem valor à produção do agricultor. "Convivência pacífica" com os produtos químicos, não entrando como escolha de um ou outro, mas sim utilizando o que de bom um e outro podem oferecer ao agricultor. Preparação de pessoal capacitado a desenvolver, produzir e recomendar de forma técnica o uso de produtos biológicos. A formação de agrônomos e técnicos agrícolas deixa muito a desejar neste aspecto. A recomendação errada deste tipo de produto tem sido um dos grandes empecilhos para que a tecnologia tenha um maior crescimento. Alguns grupos de microrganismos poderão colaborar de forma decisiva para um aumento de produtividade e de diminuição do uso de fertilizantes e defensivos químicos: fixadores de nitrogênio; promotores de crescimento e micorrizas, permitindo melhor utilização de nutrientes; solubilizadores de fósforo; toda a gama de fungos e bactérias usados como defensivos biológicos. Para tanto, porém, serão necessárias substanciais mudanças na forma de encarar este tipo de tecnologia, passando para uma forma mais pragmática e menos utópica.

TBF_010 IMPORTANCIA DE LA FIJACIÓN DEL NITRÓGENO EN LA LECHERIA.

*Malcuori, Enrique*¹
¹ Conaprole (Uruguay)
Emalcuori51@gmail.com

Los sistemas lecheros pastoriles han sido fuertemente cuestionados ante otras alternativas en principio mas intensivas y que explotan al máximo las condiciones de producción de cultivos. Bajo estos esquemas, la alimentación como suministro a animales estabulados o semi. estabulados parece una forma mas eficiente de

producción desde un punto de vista del uso de la energía, así como en las medidas de parámetros de contaminación ambiental. Sin embargo a pesar de que puede resultar cierto que la eficiencia de la energía solar capturada sea menor que cuando se compara con sistemas agrícolas intensivos, los sistemas de producción lechera bajo régimen pastoril utilizando leguminosas y el proceso de fijación simbiótica, representan una situación mucho mas equilibrada y estable desde un punto de vista productivo y ambiental. Uno de los principales desafíos que enfrentan hoy las actividades pastoriles ante el elevado precio del factor tierra, esta vinculado a lograr un adecuado equilibrio entre eficiencia de producción y estabilidad ambiental. La fijación simbiótica sigue siendo sin lugar a dudas una de las alternativas mas eficientes desde el punto de vista del manejo del nitrógeno y su eficiencia esta demostrado a lo largo de los años por la recuperación de suelos que ha logrado la cuenca lechera y la estabilidad de esos sistemas productivos. Sin embargo y a los efectos de compatibilizar los aspectos mencionados se impone estudiar cada vez con mayor atención el impacto que genera el manejo de un nutriente tan estrategico como lo es el nitrógenos y las consecuencias que genera un manejo imprudente de este nutriente. En un mundo donde la energía es una limitante y mas aún lo es la energía fósil, el diseño de sistemas de producción sustentables, aún en condiciones de economía desfavorable, hacen imprescindible lograr un modelo de producción seguro y perdurable a lo largo del tiempo. La lechería y el manejo de los sistemas de fijación de nitrógeno no solo son una alternativa viable si no que constituyen una respuesta a los desafíos ambientales que enfrenta el sector agropecuario

TBF_011 FUTURO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA AGRICULTURA. VISIÓN DESDE LA INVESTIGACIÓN.

*Peticari, A.*¹
¹ IMYZA, CNIA-Castelar (Argentina)
apeticari@cnia.inta.gov.ar

Los requerimientos de alimentos mundiales en cantidad y calidad es incesante esto obliga al sector agropecuario a un fuerte compromiso que implica mantener y aumentar los niveles productivos casi con la misma superficie cultivada hasta hoy y solo con posibilidad de aumentarla en ambientes con limitaciones y además la demanda le exige utilizar estrategias de producción menos agresivas hacia el medio donde se cultive y para la población que consume las materias primas generadas. Es decir el consumidor podría requerir la trazabilidad de cada alimento producido no solo viendo su calidad nutricional sino también considerando el consumo de agua y energía y la cantidad de agroquímicos utilizados para elaborarlo. Desde la investigación en microbiología agrícola las posibilidades de aportar en este contexto son vastas y diversas. Hoy ya está permitiendo el crecimiento de los grupos de trabajo y la formación de nuevos como así también la integración con otras disciplinas. Los estudios actuales de muchos grupos empleando las técnicas disponibles indican que aún tenemos mucho por aprender de la naturaleza ya que se siguen detectando nuevas cepas de bacterias y hongos con diferentes cualidades de promoción de crecimiento (PGPM) que en el futuro pueden ser útiles para producir inoculantes. Este incluye mayor capacidad para fijar nitrógeno, para solubilizar fósforo y la producción de fitohormonas u otros metabolitos que ayudan a la planta inoculada a crecer más y a tolerar distintos tipos de estrés sean estos bióticos u abióticos. Estas capacidades no estén disponibles en una sola cepa y se busca combinarlas para lograr un mayor respuesta en las plantas tratadas. Se observa que varios grupos ya comenzaron a manipular cepas PGPR a fin de incorporar las capacidades de diferentes cepas en una sola. Se espera un crecimiento en esta área principalmente en el uso de herramientas de biotecnología aplicada a la producción de inoculantes. Es deseable que estos desarrollos OGM con cepas PGPR estén acompañados de la legislación y control acorde a fin de incentivar lo que está bien y al mismo tiempo desestimar todo aquello que pueda tener efectos negativos con su aplicación. Los formulados inoculantes están también en un proceso de cambio y hay una tendencia creciente al agregado junto con la biomasa microbiana de otros acompañantes que promoverían diferentes efectos como mayor sobrevivida de los microorganismos sobre la semilla, mejor crecimiento de la planta en sinergia con los efectos esperados con la cepa empleada y en otros solo incentivar alguna acción específica. En resumen sean cepas naturales u OGM dentro de poco tiempo la industria de inoculantes va a disponer de estirpes de mayor eficacia que las actuales y es muy factible que la investigación aporte en el futuro nuevos acompañantes para los formulados inoculante. La microbiología agrícola tiene buen futuro solo quedaría por cubrir que esta disciplina sean considerada en las líneas de mejoramiento de plantas.

15:50 a 16:30

Taller BIOFAG

Resumen y conclusiones

Nubia C. Moreno (Colombia)

16:30 a 17:00

Taller BIOFAG

Clausura



**XXV Reunión Latinoamericana
de Rizobiología
I Congreso Nacional de
Microorganismos Promotores
del Crecimiento Vegetal**

Lunes 5

18:00 a 19:00

XXV RELAR y I MIPCV

Apertura oficial

19:00 a 19:30

XXV RELAR y I MIPCV

Conferencia de apertura

Sostenibilidad y desarrollo agropecuario en Uruguay- rol de los microorganismos benéficos

Conferencista: *Ministro Ing. Agr. Tabaré Aguerre*

19:30 a 20:20

XXV RELAR y I MIPCV

Panel y Plenario

20:00

XXV RELAR y I MIPCV

Cocktail de Bienvenida

Martes 6

09:00 a 09:50

XXV RELAR y I MIPCV

Área Temática 1: Los microorganismos y la agricultura sustentable.

Coordinador: *Elena Beyhaut*

Coordinador: *Horacio Russell*

09:00 - 09:25 - **Biological Nitrogen Fixation and sustainability in the southern hemisphere**

Conferencista: *Graham O'Hara (Australia)*

09:25 - 09:50 - **Nitrogen-fixing chickpea underpin productive, sustainable farming systems in Australia's northern grains region**

Conferencista: *David Herridge (Australia)*

AT1_001 NITROGEN-FIXING CHICKPEA UNDERPIN PRODUCTIVE, SUSTAINABLE FARMING SYSTEMS IN AUSTRALIA'S NORTHERN GRAINS REGION

Herridge, David¹; Schwenke, Graeme¹; Brock, Pip¹; McIntosh, Graeme¹

¹ University of New England, Armidale, NSW. (Australia)

david.herridge@industry.nsw.gov.au

Australia's northern grains region encompasses about 4 million ha of cropping land in New South Wales and Queensland on the eastern side of the country. The region, lying between latitudes 22°S and 32°S, is characterized by relatively moderate (500-800 mm annual) but variable rainfall and very high rates of evaporation. Pre-crop fallowing for moisture is the norm. Close to 100% of the region's farmers use no-till or minimum till, coupled with stubble retention, for managing the fallows. Cropping patterns are diverse, incorporating both summer and winter crops, varying fallow lengths and pasture phases. The estimated 5,000 farmers in the region produce, on average, more than 7 million tones grain annually, worth about \$1.5 billion. This represents about 20% of the national production. Principal grain crops are wheat, barley, sorghum and chickpea. The once fertile clay soils that dominate the region's landscape have become increasingly deficient in mineral N, prompting a need for N inputs. In response, farmers began to apply fertiliser N at rates that varied from about 30 kg N/ha to as high as 150 kg N/ha. In recent years, the cost of fertiliser N has become prohibitive, reaching almost \$2/kg N in 2008-09, and farmers have looked to legumes to include in their cropping sequences to not only reduce fertiliser N inputs, but also to provide a break for the soil- and stubble-borne diseases of the cereals. Chickpea (*Cicer arietinum*) is the principal grain legume of the northern grains region with the area increasing from close to zero to about 0.5 million ha during the past 30 years. It may well have been grown on larger areas except for diseases, particularly ascochyta that devastated the crop in the late 1998. Farmers now aim to manage the disease using partially resistant varieties, fungicides and agronomic practices. Notwithstanding the problems, chickpea has proved to be an effective rotation crop for the cereal-production systems. In many comparisons in farming systems trials, wheat following chickpea produced about 0.7 t/ha more than the wheat-wheat system. The benefit was due to a combination of higher soil nitrate levels (average of 35 kg N/ha) and lower wheat disease, particularly crown rot. These biological benefits translate into economic benefits, with as much as 50% increases in the chickpea-wheat gross margins. Almost 100% of the seed sown each winter season is inoculated, using a range of inoculant formulations (peat, granular and freeze-dried) and application methods (on seed and in-furrow). After years of inoculation, genetically-diverse rhizobial populations are now established in many of the region's soils even though a single inoculant strain, CC1192, was used throughout. The amount of N fixed by chickpea has been shown to vary substantially, affected by seasonal conditions, tillage practice and soil nitrate levels. Average values for experimental and commercial crops were estimated to be 105 and 60 kg N/ha, respectively. Excel-based and web-based decision-support (DS) tools are under development to help farmers manage both legume N and fertiliser N in these systems. New research, using field-based automated gas monitoring chambers, is also assessing the potential of biologically-fixed legume N to reduce emissions of greenhouse gases, particularly nitrous oxide (N₂O). The data are used in life cycle analysis (LCA).

AT1_002 BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION AND SUSTAINABILITY IN THE SOUTHERN HEMISPHERE

*O'Hara, Graham*¹
¹ Murdoch University (Australia)

09:50 a 10:30

XXV RELAR y I MIPCV

Presentaciones orales AT1

AT1_003 DIVERSIDAD DE MICORRIZAS ARBUSCULARES Y BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO EN PORTAINJERTOS DE VID PARA OPTIMIZAR EL PRENDIMIENTO EN LA FASE DE VIVERO.

*Costa, Diana*¹; *Barlocco, Claudia*¹; *Sicardi, Margarita*¹; *Montañez, Adriana*¹

¹ Laboratorio de Microbiología del Suelo, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales (IECA), Facultad de Ciencias-UdelaR, Iguá 4225, CP 11400. Montevideo, Uruguay (Uruguay)
dianacosta@cin.edu.uy

Entre los microorganismos benéficos, tanto los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) como las bacterias endófitas diazotrofas promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), mejoran el desarrollo y la nutrición de las plantas e incrementan la tolerancia de los cultivos al estrés biótico o abiótico. En condiciones naturales, las especies del género *Vitis* utilizadas comercialmente, tienen una alta "dependencia micorrízica" y esto permitiría mejorar su desarrollo por la manipulación de estos simbioses. El interés en la utilización de MA y BPCV en vid está dado porque la simbiosis con MA aumenta la absorción de nutrientes, mejora el transporte y la absorción de agua y contrarresta el ataque de patógenos; mientras que los efectos beneficiosos de la inoculación con BPCV, se deben a la producción de fitohormonas como ácido inolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB) y a la fijación biológica de nitrógeno, etc. En Uruguay, producción de portainjertos requiere la importación de insumos (hormonas, parafinas, etc.) lo cual incrementa un 70% los costos de producción. Además, el porcentaje de prendimiento es de 30-70% lo que implica la importación de portainjertos para cubrir la demanda nacional. La integración de MA y BPCV en la producción vitivinícola puede mejorar la calidad del suelo, disminuir el aporte de fertilizantes, el uso de hormonas e incrementar el prendimiento en fase de vivero. El objetivo de este trabajo fue aislar y caracterizar la diversidad de MA nativas y BPCV de portainjertos de vid: SO4-selección oppenheim n°4, 1103-Paulsen, 3309-Couderc, obtenidos del Vivero San Jacinto, Ruta 7, Km 57, Canelones. El aislamiento de MA y BPCV nativas se realizó a partir de raíces y tallos respectivamente, de los portainjertos antes mencionados. El aislamiento de MA se realizó por el método de planta trampa (tréboles, lotus y sorgo) utilizando como propágulo raíces micorrizadas y suelo rizosférico. Se obtuvieron esporas que fueron caracterizadas por microscopía óptica y propagadas nuevamente en plantas trampa. Los 140 aislamientos de BPCV se obtuvieron en medios selectivos sin-N (JNFb y LGI), y se clasificaron en 22 morfotipos de colonias, las que se caracterizaron por tinción Gram, utilización de diferentes fuentes de carbono, solubilización de fósforo, producción de AIA, presencia del gen *nifH* y potencial control biológico de *Cylindrocarpum* spp. Se identificarán por amplificación y secuenciación del gen *ADNr 16S*. Las MA y BPCV pre-seleccionadas se evaluarán como biofertilizantes y agentes promotores del crecimiento en ensayos de invernáculo, evaluando el porcentaje de prendimientos, peso seco parte aérea y raíces, porcentaje de micorrización, morfología de raíz, fósforo y nitrógeno en la planta. Conjuntamente se evaluará un inóculo experimental utilizado en producción vitivinícola de las Islas Canarias (España).

AT1_004 THE PLANT-ASSOCIATED *Bacillus amyloliquefaciens* STRAINS MEP₂18 AND ARP₂3 CAPABLE TO PRODUCE CYCLIC LIPOPEPTIDES ARE EFFECTIVE IN BIOCONTROL OF FUNGAL SOYBEAN DISEASES.

*Alvarez, Florencia*¹; *Rodriguez, Pablo*²; *Estanga, Ubaldo*²; *Cozzi, Jorge*²; *Giacomo Donato, Jose Luis*³; *Fischer, Sonia*¹; *Jofré, Edgardo*¹

¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² NITRAP SRL (Argentina); ³ jgiacomo@nitrap.com.ar (Argentina)
ejofre@exa.unrc.edu.ar

Sclerotinia stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* is a disease with a high incidence in soybean producing countries such as Argentina. The biological control of this disease, based on the inoculation of bacterial biocontrol agents, is considered a friendly environmental alternative to the indiscriminate use of chemical fungicides. Two previously isolated plant-associated *Bacillus* sp. strains, ARP₂3 and MEP₂18, able to inhibit the growth of fungal phytopathogens *in vitro* were subjected to further analysis to determine their taxonomic position as well as to identify the compounds responsible for their antifungal activity. Both strains, renamed as *Bacillus amyloliquefaciens* ARP₂3

and MEP₂18, were able to produce antifungal compounds belonging to the cyclic lipopeptide family. Mass spectra from RP-HPLC eluted fractions showed the presence of surfactin C₁₅, fengycins A (C₁₆-C₁₇) and B (C₁₆) isoforms in supernatants from strain ARP₂3 cultures, whereas the major lipopeptide produced by strain MEP₂18 was iturin A C₁₅. Additionally, genetic markers related to peptide synthetases involved in the biosynthesis of these cyclic lipopeptides were detected by PCR in the genomes of *B. amyloliquefaciens* strains. Moreover, alterations in mycelial morphology and sclerotial germination were observed in the presence of lipopeptides-containing supernatants from *Bacillus* strains cultures. Foliar application of *B. amyloliquefaciens* strains on soybean plants prior to *S. sclerotiorum* infection resulted in significant protection against sclerotinia stem rot compared to non-inoculated plants or plants inoculated with a non-lipopeptide producing *B. subtilis* strain.

In order to evaluate the behavior of these bacterial strains under field conditions an inoculant based on *B. amyloliquefaciens* strains was formulated by the company NITRAP SRL. The viability of *Bacillus* strains as well as the activity of the metabolites present in the inoculant remained one year. The effectiveness of the inoculant was evaluated in field trials during 2009-2010. The formulation was used for foliar application on R5.3-stage soybean plants showing typical symptoms of *Septoria* brown spots (40% of incidence) and *Cercospora* leaf spot traces. A reduction in symptoms severity and a delayed defoliation were observed after 15 and 20 days post-application compared to non-treated plants. Average soybean yield was increased between 101 and 180 kg/ha following *Bacillus* treatments with respect to non-treated plants. Moreover, the foliar application of *Bacillus* strains showed an increased soybean yield compared to the treatment with the chemical fungicide Amistar Xtra®.

Our data suggest that the foliar application of lipopeptide-producing *B. amyloliquefaciens* strains could be a promising strategy for the management of soybean diseases.

AT1_005 NODULAÇÃO E QUALIDADE DOS GRÃOS DE SOJA EM DIFERENTES DENSIDADES DE PLANTIO

*de Luca, Marcos*¹; *Hungria, Mariangela*²

¹ EMBRAPA SOJA-INTA-UEL (Argentina); ² EMBRAPA SOJA (Brasil)
marcosjde@gmail.com

INTRODUÇÃO: A radiação solar regula o crescimento, rendimento da cultura e a atividade dos nódulos de soja. Espaçamentos que permitam interceptar 95% da radiação fotossinteticamente ativa no momento do início da frutificação melhoram a taxa de crescimento da cultura (TCC), aumentando a produção de biomassa em R5. A partição de proteína, óleo e ácidos graxos para os grãos depende da posição dos mesmos ao longo do caule principal da planta, diferindo entre cultivares e com a intensidade da luz. O objetivo deste trabalho foi o de verificar o efeito da diminuição na densidade de plantas nos parâmetros da fixação biológica do nitrogênio e de rendimento e qualidade dos grãos da soja. A hipótese é de que, ao reduzir a densidade de plantas, ocorre um incremento na nodulação sem afetar o rendimento e alterando a qualidade dos grãos de soja. **MATERIAL E MÉTODOS.** Local: Embrapa Soja, Londrina, PR. Cultivar de soja BRS 133. Estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e SEMIA 5019. Tratamentos: 1) Testemunha sem inoculação, com 50 cm entre linhas e 16 pl/m (T); 2) T+ N (200 kg de N/ha, 50 cm X 16 pl/m (T + N)); 3) Inoculado, 50 cm X 04 pl/m (0,5 x 4 pl); 4) Inoculado, 50 cm X 16 pl/m (0,5 x 16 pl); 5) Inoculado, 1,0 m X 04 pl/m (1,0 x 4 pl); e 6) Inoculado, 1,0 m X 16 pl/m (1,0 x 16 pl). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com seis repetições. Amostras: em V4 e R5: número e massa de nódulos e massa da parte. O conteúdo de nitrogênio (N g/kg) foi avaliado em V4 na parte aérea; em R5 o N foi avaliado separadamente na parte aérea (folhas + caules) e nas vagens. Na colheita final foram avaliados o número pl./m², produtividade (kg/ha), conteúdo de N e óleo nos grãos (g/kg). **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Constatou-se que, a partir do estágio V4, o número de plantas por metro linear apresentou maior efeito do que a distância entre linhas de plantio nos parâmetros avaliados, indicando que as mudanças ocorrem em fases posteriores do crescimento das plantas. A maior distância entre plantas dentro da mesma linha estimulou a formação e massa de nódulos. A densidade de plantio não modificou o conteúdo, mas alterou a distribuição de N na planta, aumentando a nos tecidos verdes das vagens, mas não traduzindo em maiores teores nos grãos. A densidade não modificou significativamente o conteúdo de óleo das sementes, nem a produtividade por hectare, salvo em populações muito baixas. O conteúdo total de N/pl foi fortemente regulado pela massa seca da planta, e esse nitrogênio pode estar sendo fornecido em maior proporção pela fixação biológica do nitrogênio nos tratamentos 0,5 x 4pl. e 1,0 x 4pl.

10:30 a 11:00

Pausa

11:00 a 13:00

XXV RELAR y I MIPCV

Sesión de posters AT1

AT1_006 EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA PRÁCTICA DE LA INOCULACIÓN EN EL CULTIVO DE GARBANZO (*Cicer arietinum* L.), EN LA PROVINCIA DE TUCUMÁN, ARGENTINA

*Amigo, Josefina Alejandra*¹; *Ulla, Elsa Leonor*¹; *Espeche, Clara*²; *Vizgarra, Oscar*²; *Stegmayer, Alberto René*¹

¹ Facultad de Agronomía y Zootecnia Universidad Nacional de Tucumán (Argentina); ² Estación Experimental Agroindustrial "Obispo Colombres" (Argentina)
jaamigo@faz.unt.edu.ar

En la Provincia de Tucumán, Argentina, el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.), está en expansión y con perspectivas interesantes para orientar a su producción. Esta expansión ha demostrado las posibilidades de este cultivo como una alternativa de buena a alta rentabilidad. El garbanzo, como toda leguminosa, tiene la capacidad de fijar nitrógeno a través de la simbiosis con bacterias del género *Mesorhizobium*. La práctica más recomendable para lograr la fijación de nitrógeno, es la inoculación de semillas y es ampliamente conocido el beneficio que deriva del adecuado empleo de los inoculantes.

Al no registrarse estudios sistemáticos en la zona de la influencia de esta práctica sobre los rendimientos, se planteó como objetivo evaluar la eficacia y la respuesta a la inoculación en el cultivo de garbanzo.

El presente trabajo corresponde a tres campañas agrícolas y a dos situaciones de cultivo: con y sin riego. Para ello, se establecieron ensayos en cuatro localidades de la provincia, en microparcels y con un diseño de bloques al azar con 3 repeticiones y 2 tratamientos: testigo sin inocular y semilla inoculada con inoculante líquido de *Mesorhizobium* + Adherente protector. La variedad comercial de garbanzo usada fue Norteño. La inoculación de las semillas fue realizada el día de la siembra, siguiendo las indicaciones del producto empleado. Se realizaron distintas evaluaciones a fin de cumplir con los objetivos planteados; en R2 se evaluó infectividad, extrayendo muestras de plantas por tratamiento y se determinó número de grupos de nódulos en raíz primaria (NRP) y peso seco de masa nodular (PSN). En madurez fisiológica se recolectaron plantas de los dos surcos centrales y se determinó rendimiento expresado en kg ha⁻¹ y rendimiento relativo al máximo rendimiento de cada campaña agrícola (%). Los resultados se analizaron considerando dos factores: inoculación y siembra con y sin riego y se analizaron según análisis de la varianza y test LSD.

En cuanto a nodulación, para ambas condiciones, se observa que la inoculación duplicó la cantidad de nódulos y hasta triplicó su masa nodular.

En cuanto a los rendimientos, se observaron incrementos debidos a la práctica de inoculación en promedio, de 252,67 kg ha⁻¹ (14% - 19%) sin riego y 386,11 kg ha⁻¹ (19% - 24%) con riego. Las respuestas estuvieron fuertemente condicionadas al tipo de ambiente y a las condiciones de siembra empleada.

Las evidencias demuestran el efecto estimulante para la planta de la inoculación, lo que estaría indicando que este cultivo presenta una fuerte dependencia de esta práctica y se destaca la conveniencia de la adopción de tecnologías modernas del uso de inoculantes para el sostenimiento de altos rendimientos en el cultivo de garbanzo en la provincia de Tucumán.

AT1_007 IMPORTANCIA DEL APOORTE MICROBIOLÓGICO DE SUSTRATOS EN EL DESARROLLO DE PLANTINES DE CÍTRUS EN ALMACIGO.

*Martos, Gustavo Gabriel*¹; *Amigo, Josefina Alejandra*²; *Brandán, Celia Inés*²; *Stein, Beatriz*³

¹ Facultad de Bioquímica, Quica y Farmacia - Universidad Nacional de Tucumán (Argentina); ² Facultad de Agronomía y Zootecnia - Universidad Nacional de Tucumán (Argentina); ³ Estación Experimental Agroindustrial de Tucumán (Argentina)
jaamigo@faz.unt.edu.ar

La provincia de Tucumán es la principal productora de limones de Argentina y posee un 81,2 % de la superficie total de limoneros plantados en el país. La producción de plantas cítricas se realiza en viveros donde se utilizan suelo y distintos tipos de sustratos. En los suelos existe una población muy compleja de organismos que tienen vinculación directa con la fertilidad y son considerados importantes bioindicadores de su calidad. La utilización de distintos compuestos orgánicos en el cultivo de plantas se ha visto estimulado por la necesidad de disminuir la utilización de productos químicos y promover el uso de sustratos amigables con el ambiente.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el aporte microbiológico de dos sustratos utilizados para el desarrollo de plantines de cítrus. El ensayo se llevó a cabo en invernadero, con un diseño estadístico totalmente aleatorizados y dos tratamientos combinando sustrato comercial (SC) y lombricompost (L) : SC+Le esterilizado en autoclave y SC+L sin esterilizar, con cincuenta repeticiones. En tubetes de 250

cc se sembraron semillas de citrange Troyer [*Citrus sinensis* (L.) Osb. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]. Los parámetros evaluados fueron: recuento de heterótrofos totales y *Azotobacter spp.* mediante método de dilución en placa, presencia de estructuras micorrícicas (método adaptado de Phillips y Hayman), porcentaje de micorrización (Mc Gonigle *et al*) y las variables agronómicas: longitud y diámetro de tallo, peso fresco total, de tallo y de raíz y longitud de raíces (método de Newman). Los resultados se analizaron según análisis de la varianza y test LSD.

La cantidad de microorganismos heterótrofos totales en SC+Le fue 51,9 % menor que en SC+L. En SC+L el contenido *Azotobacter spp.* era aproximadamente 20 veces mayor que en SC+Le.

El porcentaje de micorrización en SC+L fue del 58,55 %, y en SC+Le fue de 0%. Los plantines que crecieron en SC+L tuvieron un mayor desarrollo. La longitud y diámetro de tallo en SC+L fueron 11,5 % mayores que en SC+Le. El PF. total fue 26,4 % mayor en SC+L. La relaciones PFT / PFTotal y PFR / PFTotal, y la longitud de la raíz primaria no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que la longitud de la raíz secundaria fue 21,4 % mayor en SC+L.

Los mayores contenidos de microorganismos heterótrofos, de *Azotobacter spp.* y una mayor capacidad de micorrización son características deseables en un sustrato y en este sentido, la combinación SC+L presentó ventajas en comparación a SC+Le, por lo que es lógico pensar que esas diferencias fueron las responsables de las desigualdades halladas en el crecimiento y desarrollo vegetativo de los plantines de en los distintos tratamientos.

Estos resultados muestran que las características microbiológicas, entre otras, de los sustratos, son determinantes para el desarrollo adecuado de las plantas.

AT1_008 CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO CON POTENCIAL COMO BIOFERTILIZANTES

*Azziz, Gastón*¹; *Haghjou, Tandis*¹; *Taulé, Cecilia*¹; *Bajsa, Natalia*^{1,2}; *Arias, Alicia*¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana, IIBCE (Uruguay); ² Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, UdelaR (Uruguay)
gazziz@gmail.com

El fósforo (P) es un elemento esencial para la vida. Está presente en el suelo casi exclusivamente como fosfato (PO₄³⁻) y forma parte de compuestos claves universales en los seres vivos, tales como fosfolípidos y ácidos nucleicos. Es uno de los siete macronutrientes y después del nitrógeno es el elemento más limitante para el crecimiento vegetal. Una fracción mayoritaria del P en el suelo se encuentra en formas no solubles que no están disponibles para las plantas. Las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) aumentan la cantidad de P disponible, principalmente a través de la producción de ácidos orgánicos. Existen dos mecanismos por los cuales la solubilización representa un aumento en la disponibilidad de P para las plantas: por un lado las BSF solubilizan más P del que internalizan y el P de la biomasa bacteriana representa un reservorio más lábil que el P inorgánico insoluble. El objetivo del presente trabajo fue obtener una colección de aislamientos de BSF e identificar aquellos que presenten mejores atributos como potenciales biofertilizantes. Las muestras de suelo se obtuvieron en el otoño de 2008 de un ensayo instalado en INIA Treinta y Tres bajo siembra directa que comprende: un campo natural, dos sistemas de rotaciones de cultivo/pastura, una pastura permanente y un cultivo continuo. La colección de BSF fue obtenida por aislamiento en medio NBRIP que contiene fosfato tricalcico como única fuente de P. Fue evaluada en su capacidad de solubilización in vitro, clasificando los aislamientos según los halos de solubilización en el mismo medio. Aquellos aislamientos que presentaron un halo con mayor diámetro se seleccionaron para los análisis subsiguientes. Se realizaron 12 repiques sucesivos de los aislamientos en medio rico (TSA 1/10) y posteriormente se volvió a determinar el diámetro del halo de solubilización; de esta manera se determinó la estabilidad de la capacidad solubilizadora in vitro. Finalmente, se determinó la capacidad de solubilización de los aislamientos en cultivo líquido midiendo la cantidad de P en solución en función del tiempo de incubación. Se secuenció el gen del ARNr 16S de los aislamientos más prometedores. El 29% de los aislamientos obtenidos mostraron la mayor capacidad solubilizadora in vitro, según la clasificación utilizada, en el ensayo realizado en placa. De los 21 aislamientos cuya estabilidad de la capacidad solubilizadora fue puesta a prueba, 20 mantuvieron esta característica invariada. Aislar y caracterizar bacterias capaces de promover el crecimiento vegetal representa una oportunidad en el desarrollo de estrategias de producción sustentable. Las BSF surgen como una alternativa sensata ambientalmente para aumentar la eficiencia en el uso de fertilizantes fosforados. Potenciar los servicios que ofrece la biota del suelo es una herramienta vital para aumentar la productividad.

Financiación: PDT-DICYT, FCE-ANII

AT1_009 EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS DIAZOTRÓFICAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO SOBRE PLANTAS DE ARROZ DE LA VARIEDAD IR42.

Estrada Bonilla, German Andres¹; de Oliveira, Danilo¹;

Baldani, José Ivo²; Baldani, Vera Lucia²

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Brasil); ² Embrapa Agrobiologia (Brasil)
vera@cnpab.embrapa.br

El arroz (*Oryza sativa* L.) es la base de la alimentación de diversos países del mundo, siendo consumido en los cinco continentes. La grande explosión demográfica ha llevado a aumentar su demanda, utilizándose grandes cantidades de fertilizantes químicos nitrogenados y fosfatos junto con variedades responsivas a estos fertilizantes, que por su vez se ha convertido en el principal factor limitante para su producción, además de contaminar suelos y aguas. Una de las posibles soluciones es emplear bacterias diazotróficas y promotoras del crecimiento vegetal. Dentro de esta problemática el objetivo del trabajo fue evaluar la respuesta de plantas de arroz de la variedad IR42, cultivadas sobre inundación y mantenidas en invernadero, a la inoculación o no con las bacterias diazotróficas y solubilizadoras de fosfatos *Burkholderia vietnamiensis* AR114, *Herbaspirillum seropedicae* BR12062, BR11772 previamente seleccionadas y las cepas patrón *H. seropedicae* BR11417 (ZAE 94), *Gluconacetobacter diazotrophicus* BR11281 (PAL5), *Azotobacter chroococcum* AC1. En materas de 6 kg se colocaron 4 kg de suelo procedente de la unidad experimental de Embrapa agrobiología. Las semillas fueron inoculadas con inoculantes turbosos con una concentración de 10⁹ ufc g⁻¹ de cada una de las cepas. Fueron sembradas 4 semillas por vaso, a los 25 días después del plantío (DDP) se realizó el raleo dejando dos plantas por materia y la inundación. El diseño experimental fue en bloques al azar, en un arreglo factorial 9 x 2 con 9 tratamientos, 2 fuentes de P (Fosfato tricálcico (PCT) e súper fosfato simple (PSS)) y 2 épocas de recolección (período vegetativo e florecimiento). Los parámetros analizados fueron la materia seca, acumulo total de N, P de la parte aérea y de los granos. Todas las cepas aumentaron la producción de granos respecto al testigo no inoculado entre 33 y 47% cuando fue usado PTC y de 18 a 44% cuando se uso PSS. En general todas las cepas aumentaron el acumulo de N y P total durante todo el ciclo del cultivo. Los resultados preliminares muestran que estas bacterias pueden ser evaluadas y posteriormente utilizadas en el desarrollo de inoculantes que complementen la fertilización de síntesis en campo.

AT1_010 CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum*): BACTERIAS ENDÓFITAS NATIVAS CON POTENCIAL PARA LOGRAR CULTIVOS SUSTENTABLES

Barlocco, Claudia¹; Battistoni, Federico²; Sicardi,

Margarita¹

¹ Laboratorio de Microbiología del Suelo, Facultad de Ciencias-UdelaR. Mataojo 2055. Montevideo-Uruguay (Uruguay); ² Laboratorio de Bioquímica y Genómica Microbianas. IIBCE-MEC. Av Italia 3318. Montevideo-Uruguay (Uruguay)
bioclau83@hotmail.com

El Proyecto Sucre-Alcoholero (ALUR S.A.) está en ejecución desde el año 2006, en Bella Unión (Artigas). Su finalidad es la industrialización de la caña, con producción de azúcar, energía eléctrica, alimento animal, enmienda orgánica y bioetanol. Este último, tiene el propósito de sustituir parte de los combustibles fósiles por biocombustibles, disminuyendo significativamente las importaciones de petróleo. Es un Proyecto de importancia productiva y social y de gran apoyo gubernamental. En nuestro país la caña de azúcar, requiere alta fertilización nitrogenada, se cultiva en predios pequeños (<15ha) y se siembra caña sobre caña, llevando a una disminución de los rendimientos y un deterioro de la calidad del suelo. Es así que en diversos países se han venido desarrollando nuevas biotecnologías que emplean bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PCV) en diferentes cultivos. El objetivo del trabajo es conocer las características de PCV de bacterias endófitas diazotróficas (BED) nativas, aisladas de variedades de caña de azúcar cultivadas en nuestro país.

Se construyó una colección de 371 BED nativas de caña que se clasificó en 43 grupos morfológicos. De 84 BED preseleccionadas, 18 resultaron *nifH+* y formadoras de una película de crecimiento en medios semisólidos sin-N (capacidad diazotrófica), 11 modificaron el pH del medio (neutro-ácido) y formaron 12 grupos ERIC-PCR diferentes. Esta colección se unificó con una generada en el IIBCE, a la cual se le secuenció el gen *16s ADNr*. A partir de los resultados obtenidos, 8 BED promisorias fueron seleccionadas para ser estudiadas, pertenecientes a los géneros: *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Enterobacter*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Pantoea*, *Rhanelia* y *Shinella*. Se encontraron que 2 fueron productoras de sideróforos y 7 son capaces de crecer en triptona como única fuente de C. Todas crecen en las seis fuentes de C y de N y cuatro valores de pH evaluados. En la mayoría de las BED se observó diferente crecimiento en azúcar de caña no refinada a 5g/l, 100 g/l y 200g/l, en la producción de exopolisacáridos y en el cambio de pH de los medios. No se detectaron diferencias de las BED en el crecimiento con y sin agitación. En el caso de la resistencia a antibióticos se detectó una BED resistente para estreptomina y kanamicina, mientras que para cloranfenicol y ampicilina todas las BED mostraron

resistencia intrínseca al menos para una de las tres concentraciones evaluadas. Los resultados obtenidos evidencian que en las bacterias estudiadas existen características potenciales de PCV para los cultivos de caña.

Se prevé el estudio de la presencia de enzimas hidrolíticas, posiblemente involucradas en la infección de las bacterias a la planta y el estudio de la capacidad biocontroladora de fitopatógenos, así como la determinación de la habilidad industrial y la contribución de la fijación biológica de nitrógeno por dilución isotópica de ¹⁵N. Financiación: FPTA-275/ANII

AT1_011 CARACTERÍSTICAS COMPETITIVAS DE UN INOCULANTE PARA TEBOL ROJO

Batista Montesano, Leticia¹; Sanchez, Maximo¹; Irisarri, Pilar¹; Rebuffo, Monica²; Monza, Jorge¹

¹ Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay (Uruguay); ² INIA La Estanzuela (Uruguay)
ibatista@fagro.edu.uy

El trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) es usado en el mejoramiento de praderas en Uruguay, y es inoculado desde la década del '60 con la cepa U204 de *Rhizobium leguminosarum* bv *trifolii*. Los inoculantes permiten mejorar la implantación, producción y duración de las praderas, por lo que en agricultura constituyen una tecnología clave para asegurar la sustentabilidad y productividad. La competitividad del inoculante respecto a las cepas nativas es una característica a tener en cuenta en la selección, pero ha sido escasamente evaluada en ensayos a campo debido a dificultades derivadas del monitoreo de cepas. En este trabajo se evaluó la competitividad en condición de campo de cepas nativas, un inoculante experimental (317) y el inoculante comercial (U204). Para esto se colectaron nódulos al azar de la zona superior de la raíz principal (RPS) y de las raíces secundarias (RSI), a los 6 y 12 meses después de sembrados. Se realizaron aislamientos desde nódulos, extracción de ADN por lisado y amplificado del mismo por ERIC-PCR. Los resultados evidenciaron que a los 6 meses la cepa 317 se encontró en 52% de los nódulos en RPS y 22% de los nódulos en RSI, mientras que a los 12 meses fue recuperada en 8% de nódulos en RPS. Por otro lado la cepa U204 se encontró en el 50% de los nódulos en RPS, y 4% de los nódulos en RSI y el resto de los nódulos estaban ocupados por cepas nativas. A los 12 meses no se encontraron nódulos ocupados por esta cepa en RPS, pero si en el 20% de nódulos de RSI. Se puede inferir entonces, en las condiciones del ensayo, que los nódulos inducidos por el inoculante comercial aportarían nitrógeno a la planta durante unos 6 meses, pero a partir de ese tiempo el nitrógeno provendría mayormente de nódulos ocupados por las cepas nativas. Entre las cepas nativas, se encontraron 3 perfiles con alta frecuencia (I, L y S), es decir cepas competitivas. La cepa I fue marcada con un trasposón que lleva el gen *gusA*, para evaluar su competencia en condiciones controladas en suelos confinados en cilindros. Esta estrategia permite identificar fácilmente los nódulos ocupados por la cepa marcada (I::gusA), por incubación con el sustrato XglcA. En este momento se evalúa la competitividad y ocupación de nódulos I::gusA, en diferentes suelos. Cuando se coinocularon plantas con la cepa I::gusA y la cepa I salvaje en condiciones *in vitro*, se observó que las plantas nodulaban mayoritariamente con una de las fuentes de inoculo. Esto apoyaría la hipótesis que la bacteria que infecta primero la planta determina un patrón de infección.

AT1_012 GRANULAR INOCULANTS IMPROVE LEGUME ESTABLISHMENT IN PRAIRIE RESTORATION

Beyhaut, Elena¹; Allan, Deborah²; Graham, Peter #²

¹ INIA-Microbiología de suelos (Uruguay); ² University of Minnesota, Dept. of Soil, Water and Climate (Estados Unidos)
ebeyhaut@inia.org.uy

The North American prairie biome once occupied the Great Plains from Canada to the Mexican border, covering approximately 162 million ha. Systematically converted to agriculture, less than 15% still remains of those prairies. In western and southern Minnesota, before the arrival of the European settlers, the tallgrass prairie occupied nearly 7.3 million. Less than 0.5% of the original prairie grasslands remain at present, and much of the remainder exhibits loss of biological diversity and soil erosion. Efforts to restore prairies began in the 1930s, and since then interest has grown in reconstructing native grasslands on degraded land in order to increase the ecological services provided. The inclusion of legumes -a source of slow-release nitrogen in grasslands- has a number of benefits, including reduction of weeds associated with nitrogen fertilizer use and enhancing plant diversity. Success in reestablishing legumes is expected to lead to more diverse and sustainable restored prairies, but some evidence suggests that prairie legume establishment is rhizobia-limited. Inoculant rhizobia are available for many of the prairie legumes, although taxonomy and ecology of these organisms still remain for the most part unknown. Besides, prairie legume inoculation in restoration settings is not a customary practice. The main objective of this study was to test improved methods of legume inoculation: granular clay- and granular peat-based inoculants, seed-applied powdered sterile peat inoculant, inoculated wheat seed as a cover crop, and an uninoculated control. Inoculation treatments were evaluated over a 3-year period (2005-2007) to determine their effects on microbial biomass

C and N, prairie legume establishment success, and rhizobial strain recovery over time. Native legumes *Amorpha canescens*, *Astragalus canadensis*, *Chamaecrista fasciculata*, *Dalea candida*, *Dalea purpurea*, *Desmodium canadense*, and *Lespedeza capitata* were surveyed. Soil biological properties did not significantly improve during the 3-year period. Legume species richness was enhanced by soil applied granular clay inoculation, while traditional seed inoculation was generally ineffective. When *Dalea* rhizobia were recovered from soil in the different prairie plots, and DNA fingerprinted using BOXA1R-PCR, only 2% of the strains from the seed inoculation treatment were identified as inoculant strains, whereas 53% -100% of the rhizobia from soil in the other treatments represented these strains. Each legume species had a different response to inoculation. To a greater extent than expected, some legumes established effective symbioses with strains not originally intended for them. Results provide new insights on how to better select inoculant-quality rhizobia for prairie legumes, as well as how to improve inoculant delivery methods in restoration settings.

Peter Graham was a major contributor to this study, now published in honor to his memory.

AT1_013 RECUPERACIÓN DE SUELOS GANADEROS COLOMBIANOS DEGRADADOS MEDIANTE LA IMPLEMENTACIÓN DE PRÁCTICAS SOSTENIBLES

Murillo Solano, José¹; Moreno Galván, Andrés Eduardo¹; Garrido Rubiano, María Fernanda¹; Roncallo Fandiño,

Belisario Antonio¹; Bonilla Buitrago, Ruth Rebeca¹

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica (Colombia)

rbonilla@corpoica.org.co

El 90% de los suelos con potencial agropecuario en el departamento del Cesar (Colombia) está afectado por diversos grados de deterioro de sus características físicas, químicas y biológicas. El objetivo del estudio fue implementar prácticas sostenibles en el manejo de los suelos para contribuir con la recuperación de las praderas y mejorar la sostenibilidad y competitividad de la producción de carne bovina en el departamento del Cesar, mediante la aplicación de prácticas sostenibles. En el estudio del suelo se aplicó un diseño experimental de bloques completos al azar y la información se sometió a análisis de varianza. Se aplicaron prácticas sostenibles, consistentes en labranza adecuada, incorporación de abonos verdes de frijol Caupí (*Vigna unguiculata*), siembra de cobertura vegetal con gramíneas y leguminosas (*Leucaena leucocephala*, *Clitoria ternatea*); se realizó una evaluación comparativa de las características químicas, físicas y biológicas, de la producción de forraje y de la respuesta animal con terneros de levante. Los resultados revelaron una tendencia de mejoramiento en las características químicas y físicas del suelo; las ganancias de peso/animal/día y la producción de materia seca/ha fueron superiores en 46.3 y 44.2%, respectivamente, donde se aplicaron prácticas sostenibles comparadas con el testigo. El presente estudio evidenció beneficios con la aplicación de prácticas sostenibles en la recuperación de praderas degradadas, mostrando ser una alternativa viable para el mejoramiento de la capacidad productiva de los suelos y el desarrollo sostenible de la ganadería colombiana.

AT1_014 IMPACTO DE LA INOCULACIÓN DE LA CEPAS PROMOTORA DEL CRECIMIENTO VEGETAL *Pseudomonas fluorescens* αC119 EN LA IMPLANTACIÓN DE LA ALFALFA

Yanes, María Lis¹; Braga, Lucía¹; Altier, Nora²; Arias,

Alicia¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana, IIBCE (Uruguay); ² Sección Protección Vegetal INIA Las Brujas (Uruguay)

luciabraganan@gmail.com

La instalación de un cultivo de alfalfa exitoso, con el cual obtener un alto rendimiento forrajero, depende del establecimiento de un buen número de plantas durante el primer año del cultivo. Las enfermedades de implantación son un factor limitante en el mantenimiento de alfalfares productivos. El control biológico mediante *Pseudomonas fluorescens* puede estimular el crecimiento de las plantas y/o disminuir el daño provocado por patógenos favoreciendo la implantación del cultivo. La cepa nativa *P. fluorescens* αC119, originalmente aislada de rizósfera de alfalfa presenta un gran potencial como agente de biocontrol y de promoción del crecimiento vegetal. Dicha cepa produce metabolitos secundarios con actividad antifúngica tales como ácido cianhídrico, proteasas y un antibiótico de tipo biosurfactante. Dicha cepa ha mostrado un efecto protector significativo contra el *damping-off* causado *Pythium debaryanum* y el aumento de biomasa vegetal en condiciones controladas. Los objetivos del presente trabajo son la evaluación del efecto biocontrolador y promotor del crecimiento de la cepa αC119 sobre la alfalfa en condiciones de campo y el impacto de su inoculación sobre la estructura de la comunidad bacteriana asociada a la raíz de la planta. Para ello se realizó un ensayo de campo en el cual las semillas de alfalfa fueron tratadas con un inoculante basado en la cepa de *P. fluorescens* el cual se aplicó junto con el rizobio

comercial. Como tratamiento control se sembró alfalfa inoculada únicamente con el rizobio. Se evaluará el porcentaje de emergencia a los 15 y 30 días, la implantación a los 60 días y la biomasa aérea a los 60 y 120 días post siembra. Por otra parte, se determinará la capacidad colonizadora de la raíz de alfalfa por la cepa αC119. Para ello se realizarán recuentos en placa a partir de rizósfera de alfalfa colectada a los 15, 30, 60 y 120 días post siembra. El impacto de la introducción de la cepa *P. fluorescens* αC119 sobre la estructura de la comunidad bacteriana de la raíz de alfalfa se determinará mediante DGGE (*Denaturing Gradient Gel electrophoresis*) del ADNr 16S amplificado por PCR a partir del ADN total extraído de la rizósfera de plantas inoculadas con los dos tratamientos mencionados. Estos resultados contribuirán al desarrollo de un producto biotecnológico basado en una cepa nativa la cual aportará una herramienta más para el desarrollo de sistemas agrícolas sustentables.

Proyecto financiado por Fondo Clemente Estable

AT1_015 PRODUCCION SUSTENTABLE DE *Eucalyptus globulus* LABILL. EN VIVEROS FORESTALES: USO DE *Trichoderma harzianum* RIFAI COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO

Tornatore, Adriana¹; Rodriguez, Pablo Ismael²; Sobrero y Rojo, María del Pilar³; Cucciuffo, Emiliano³; Giachino, Victoria³; Penon, Eduardo Augusto³; De Falco, Pablo Danie²; Craig, Elena Beatriz²

¹ Instituto Faa di Bruno (Argentina); ² Universidad Nacional de Luján- NITRAP (Argentina); ³ Universidad Nacional de Luján (Argentina)

craigelena@yahoo.com.ar

En Argentina se producen anualmente un promedio de 55 millones de plantas forestales de distintas especies de pinos y eucaliptos principalmente. El mercado forestal a nivel mundial exige plantas de calidad, pero cuya producción sea sustentable teniendo en cuenta aspectos ambientales, económicos y sociales. El objetivo de este estudio fue evaluar durante el ciclo de cultivo en vivero de *Eucalyptus globulus* Labill, el uso del hongo *Trichoderma harzianum* Rifai como una alternativa productiva de bajo impacto ambiental en su acción como promotor de crecimiento. El ensayo se realizó en el invernáculo de la Universidad Nacional de Luján. Se utilizó sustrato forestal esterilizado con las distintas dosis y formulaciones de *Trichoderma harzianum* (Th1 formulada en turba y T2 formulada en talco). Se aplicó fertilizante de liberación lenta a todos los tratamientos (25 gr/bandeja). Se sembraron semillas de *Eucalyptus globulus* de rodal semillero, de procedencia local (INTA 25 de Mayo). Se utilizaron bandejas de 40 celdas de 90 ml y el diseño fue completamente aleatorizado con 6 repeticiones: T1 (Testigo), T2 (cepa T2 en talco 10gr/bandeja), T3 (cepa T2 en talco 20 gr/bandeja), T4 (cepa Th1 en turba al 5% en volumen), T5 (cepa Th1 en turba al 10% en volumen). Se evaluó a los 3 y 5 meses: altura, biomasa aérea y biomasa radicular. Al principio y al final del ensayo se determinó el número de unidades formadoras de colonia (UFC) del hongo en el sustrato. Los datos fueron analizados estadísticamente por ANOVA y test de medias LSD. En el análisis de varianza se observa que todas las variables son significativas excepto la biomasa radicular. Las variables que mejor respuesta tuvieron a los tratamientos son la altura y la biomasa aérea. En la primera evaluación, los tratamientos T4 y T5 formulados con turba, presentaron plantas significativamente más altas que el testigo (+24%) y de mayor biomasa aérea (+37%) respecto del testigo ($p < 0.001$). Al final del ensayo, los tratamientos T4 y T3 mostraron plantas significativamente más altas que el testigo (+15%) y de mayor biomasa aérea (+40%), respecto al testigo ($p < 0.05$). Respecto a la evolución de las UFC del hongo, T3, T4 y T5 tuvieron alta sobrevivencia, llegando al final del ensayo con concentraciones, aunque menores que las iniciales, consideradas efectivas. Las cepas Th1 y T2 de *Trichoderma harzianum* promovieron el crecimiento en altura y biomasa aérea de plantas de *Eucalyptus globulus* en vivero. Dicho efecto fue mayor a los 3 meses post-siembra. Es importante evaluar el tipo de formulación del hongo y su sobrevivencia en las distintas condiciones de cultivo de plantas en vivero para poder recomendar distintas posibilidades de manejo del mismo.

AT1_016 EFECTO DEL PELETIZADO DE SEMILLAS DE SORGO DULCE CON *Trichoderma sp.* PARA EL CONTROL DE *Fusarium nygamai*

Corallo, Belén¹; Lupo, Sandra¹; Tiscornia, Susana¹;

Bettucci, Lina¹

¹ Facultad de Ciencias-Facultad de Ingeniería (Uruguay)

belcorall@hotmail.com

Fusarium nygamai es un hongo fitopatógeno que produce grandes pérdidas en cultivos de sorgo dulce. Una alternativa empleada para el control de hongos fitopatógenos está basada en la utilización de agentes de control biológico. En particular *Trichoderma sp.* es un hongo ampliamente utilizado con este fin por producir metabolitos secundarios con capacidad antagonista frente a otros microorganismos, por su rápida velocidad de crecimiento y por promover el crecimiento de algunas plantas. En trabajos previos

realizados en el Laboratorio de Micología seleccionamos dos cepas de *Trichoderma* productoras de metabolitos secundarios capaces de inhibir el crecimiento de cepas de *F. nygamai* aisladas de sorgo dulce. Estas cepas fueron: *T. harzianum* (T6) y *T. atroviride* (T21). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del peletizado de semillas de sorgo con las dos cepas de *Trichoderma* seleccionadas para controlar a *F. nygamai*. Para evaluar el efecto sobre la germinación de las semillas se colocaron en cajas de Petri con medio agar-agua semillas de sorgo dulce esterilizadas superficialmente. Las condiciones ensayadas fueron las siguientes: a) semillas solas, b) con el adherente comercial A.D.Cell, c) con una mezcla de dos cepas de *F. nygamai*, d) con la cepa T6 y e) con la cepa T21. Con la finalidad de evaluar el efecto del peletizado en el control biológico de *F. nygamai*, las semillas previamente mezcladas con la suspensión de esporas de *Trichoderma* (10⁹ esporas/ml) y adherente se colocaron en tubos con agar-agua y se aplicaron 100 µl de una suspensión de esporas de *F. nygamai* (10⁸ esporas/ml). También se realizaron tubos con semillas solamente con *Trichoderma* y otros solo con *F. nygamai*. Se dejaron germinar y se observó la presencia de síntomas. Al finalizar el ensayo se determinó el peso fresco de las plantas y se recuperaron los hongos presentes dentro de las mismas, mediante el cultivo de fragmentos de los distintos órganos. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo en las semillas solas. En el caso de las semillas peletizadas con las cepas de *Trichoderma* T6 y T21 e inoculadas con *F. nygamai* se observó una disminución en la mortalidad de las plántulas en comparación con las semillas no peletizadas con *Trichoderma* e inoculadas con *F. nygamai*. Todas las plantas inoculadas con *Fusarium* desarrollaron el síntoma. El peso fresco fue mayor para las plantas sin tratar y con adherente, seguido de los tratamientos con *Trichoderma*, *Trichoderma* más *Fusarium* y solo *Fusarium*. En todos los casos se logró recuperar los hongos inoculados.

AT1_017 TRANSLOCACIÓN COORDINADA EN MASA (*swarming*) EN *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110

Covelli, Julieta M.¹; Althabegoiti, M. Julia¹; Lopez, M.

Florencia¹; Lodeiro, Anibal R.¹

¹ INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR -Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas - UNLP -CCT-La Plata, CONICET (Argentina)
jcovelli@biol.unlp.edu.ar

La competición para la nodulación en los ambientes edáficos puede ser afectada por diversos factores, siendo la movilidad de los rizobios uno de los más importantes. Existen al menos siete clases de movimiento bacteriano, entre ellas, un movimiento de translocación coordinada en masa sobre superficies sólidas (*swarming*) impulsado por el aparato flagelar. Durante el *swarming* las células se diferencian a formas hiperflageladas, aumentan su superficie de contacto y secretan sustancias con actividad autoinductora del quorum sensing y surfactantes que facilitan la translocación. El *swarming* ha sido propuesto como el tipo de movimiento que las bacterias pueden realizar para desplazarse sobre las superficies del suelo y la raíz. Si bien el *swarming* ha sido reportado en muchas especies, incluso en rizobios, no ha sido descrito en *Bradyrhizobium japonicum*. Esta especie es única entre los rizobios por presentar dos sistemas de flagelos, uno formado por flagelinas de alto peso molecular (65 kDa), que se expresa de forma constitutiva en células planctónicas, y otro formado por flagelinas de menor peso molecular (32 kDa) cuya expresión depende del tipo de fuente de carbono. Por ello, nos hemos propuesto caracterizar este tipo de movimiento en *B. japonicum* y estudiar su relación con cada uno de sus dos sistemas de flagelos.

Luego de un trabajo exhaustivo en el que se buscaron las condiciones adecuadas para evidenciar el *swarming* en *B. japonicum* USDA 110, logramos un protocolo reproducibile tanto macro como microscópicamente. Así, observamos un patrón de desplazamiento superficial con ramificaciones características en cajas agarizadas, como así también una ultraestructura de células alargadas, hiperflageladas y asociadas entre sí por los polos, vista al microscopio electrónico.

Previamente, en nuestro laboratorio se obtuvo por selección artificial una derivada de USDA 110 con mayor movilidad del tipo de desplazamiento en medio líquido (*swimming*), llamada LP 3008. Esta cepa también presentó un mayor desplazamiento de *swarming*.

Con ambas cepas caracterizamos el efecto del tipo de fuente de carbono sobre el *swarming*. Observamos para cada fuente de carbono distintos fenotipos macroscópicos, como así también diferencias en el tiempo que demandaba el desplazamiento de *swarming*, aunque siempre registramos un mayor desplazamiento en LP 3008. Para tratar de evaluar el rol de cada sistema de flagelos, analizamos la capacidad de realizar este movimiento en mutantes desprovistos de cada uno de ellos o en ambos. Tal como era de esperar, aquellos mutantes desprovistos de ambos flagelos fueron incapaces de translocarse. Sin embargo, los mutantes en cualquiera de los flagelos mostraron una marcada reducción del movimiento, siendo esta disminución más drástica en los mutantes que sólo presentaban el flagelo de mayor peso molecular, tanto en el acervo genético de la cepa salvaje como en el de LP 3008. Tomados en conjunto, estos resultados indican que cualquiera de los dos sistemas de flagelos sirve para el *swarming*. En estos momentos continuamos los estudios con otros mutantes afectados en la liberación de surfactantes y en la unión célula-célula.

AT1_018 RESPUESTA DEL MAÍZ A LA BIOFERTILIZACIÓN COMBINADA: *Azospirillum-Pseudomonas*

San Román, Pablo¹; Creus, Carolina¹; González, Rosalía¹;

Pobliti, Lucrecia²; Pereyra, Alejandra¹; Creus, Cecilia M.¹

¹ FCA, UNMdP (Argentina); ² Palaversich, Barenbrug (Argentina)
ccreus@balcarce.inta.gov.ar

Las prácticas agrícolas modernas apuntan a integrar el manejo de los recursos y el control de las malezas y enfermedades, para lograr la óptima productividad de los cultivos sin impactar negativamente sobre el ambiente. El género *Azospirillum* es el más utilizado en inoculantes comerciales a base de PGPR en todo el mundo. Argentina es uno de los países líderes en su aplicación. El género *Pseudomonas*, es utilizado en combinación con *Azospirillum*, en productos comerciales. Si bien ya están disponibles en el mercado numerosos productos a base de PGPR, aún no se ha alcanzado un paquete tecnológico adaptado a distintas condiciones para obtener máximas eficiencias. En este ensayo se analizaron los efectos de la inoculación con el biofertilizante Biopower de Palaversich, formulado a base de *A. brasilense* y *P. fluorescens*, sobre el rendimiento total y sus componentes (peso de granos por m², peso de 1000 granos y peso hectolítrico) del cultivo de maíz en un suelo de Balcarce y con diferentes niveles de fertilización nitrogenada en las campañas 2009-2010 y 2010-2011.

El ensayo se realizó en la EEA Balcarce. Dos híbridos Dekalb de alto rendimiento en la zona se sembraron con siembra convencional y tres niveles de inoculación: testigo sin inocular, biofertilizante Palaversich Biopower simple y doble dosis. Se fertilizó en V6 con 250 kg urea/ha (N dosis completa), 125 kg/ha (1/2 dosis N) y control sin fertilizante. El diseño del ensayo fue un DBCA con 4 repeticiones y 9 tratamientos resultantes de la combinación de los 2 factores de estudio. Se determinó humedad porcentual a cosecha, peso hectolítrico, número de granos por m² y peso de 1000 granos. Tanto el factor inóculo como el factor fertilización tuvieron efectos significativos sobre el rendimiento. Las mayores respuestas al inóculo se obtuvieron en la condición de mitad de dosis de fertilizante aplicado. El tratamiento de mayor rendimiento fue el correspondiente al Inoculante Palaversich Biopower en la condición de fertilización con 1/2 dosis de urea, difiriendo significativamente del resto de los tratamientos de fertilización. El tratamiento BioPower, 1/2 N produjo una ganancia promedio de 1899 kg/ha respecto al tratamiento sin inocular y fertilizado con 1/2 de N. En esta condición de menor fertilización, el duplicar la dosis de inóculo no produjo mayores respuestas frente al control. En condiciones de bajo nivel de N-Nitrato en el suelo, es decir sin la aplicación de fertilizante, ambos tratamientos de inoculación (simple o doble dosis) incrementaron significativamente el rendimiento sobre el control sin inocular. Con alto nivel de fertilización no se observaron diferencias significativas debido a la inoculación en cualquiera de las dos dosis. El peso hectolítrico corregido por humedad (14%) mostró diferencias significativas, siendo el tratamiento BioPower, 1/2 N el de mayor valor. En el segundo año ningún tratamiento produjo efectos significativos sobre el rendimiento.

AT1_019 CARACTERIZACIÓN DE RIZOBIOS DE CRECIMIENTO RÁPIDO AISLADOS DE NÓDULOS Y RIZÓSFERA DE *Arachis hypogaea* L. (MANÍ) EN LA PROVINCIA DE CÓRDOBA (ARGENTINA)

Medeot, Daniela¹; Buendía, Ana²; Dardanelli, Marta¹;

Ruiz-Sainz, José Enrique²

¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² Universidad de Sevilla (España)
mdardanelli@exa.unrc.edu.ar

En el contexto global actual las prácticas agrícolas sustentables están impulsadas por la demanda de alimentos y por los problemas ambientales. En el Sur de Córdoba (Argentina), el maní (*Arachis hypogaea* L.) y la soja (*Glycine max* L.) generan importantes divisas provenientes de su exportación lo que determina una creciente siembra a nuevas zonas, donde la presencia de rizobios nativos es un factor determinante para su éxito agrícola. En este trabajo presentamos la caracterización de las cepas de crecimiento rápido (CR) L1-15 y L5-N23, aisladas de rizósfera y de nódulos de plantas de maní obtenidas de un campo sin historia de inoculación. También se utilizaron las cepas recomendadas como inoculantes de maní *Bradyrhizobium* SEMIA6144, de crecimiento lento (CL) y *Rhizobium* TAL1000 de CR, y *Sinorhizobium fredii* HH103 cepa de CR nodulante de soja. Se determinó por PCR la presencia de genes de nodulación y genes para el Sistema de Secreción de Tipo Tres encontrando que los genes *nodD1* y *tsl* están conservados en los rizobios del maní. Además se conoce que los lipopolisacáridos (LPS), los polisacáridos capsulares (KPS) y los exopolisacáridos (EPS) son relevantes durante la infección de los rizobios. Por este motivo y porque además provee información adicional en el estudio de la diversidad de la población de rizobios y puede utilizarse como un complemento de las técnicas genéticas, se realizó la extracción de LPS y su separación por SDS-PAGE. Se observó que los perfiles de TAL1000, L1-15 y L5-N23 son similares a lo observado en los rizobios de CR, como HH103, donde se distinguen dos regiones con diferente movilidad electroforética (LPS

liso y LPS rugoso). En SEMIA6144 el perfil se asemeja al de algunos rizobios de CL que presentan una escalera de bandas homogéneamente distribuida. Adicionalmente se determinó que ninguna de las cepas en estudio presenta KPS en las condiciones de detección utilizadas. Por otra parte, se reveló la presencia de dos plásmidos de peso molecular muy alto (> 1000 kb) en las cepas de CR que nodulan maní, que acuerda con bibliografía que reporta la presencia de megaplásmidos en los rizobios de CR, muchos de los cuales poseen genes esenciales para la simbiosis con la planta, mientras que no se han descrito plásmidos simbióticos en rizobios de CL. En conjunto estos resultados indican que las cepas aisladas de plantas de maní presentan características descritas en rizobios de CR que pueden resultar en ventajas competitivas respecto de las cepas de CL tradicionalmente asociadas con la nodulación del maní. Una de estas ventajas puede ser la presencia de plásmidos como componentes genéticos importantes para la divergencia y la adaptación de las poblaciones microbianas ya que contribuyen a la flexibilidad del genoma. Actualmente se están realizando estudios complementarios para esta caracterización.

AT1_020 CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD PROMOTORA DEL CRECIMIENTO EN PLÁNTULAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) DE UNA COLECCIÓN CONFORMADA POR AISLAMIENTOS ENDÓFITOS DE NÓDULOS DE MANÍ (*Arachis hypogaea* L.)

Ibañez, Fernando¹; Arroyo, María Eugenia¹; Fabra, Adriana¹

¹ Dpto. de Ciencias Naturales, FCEFOyN, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina (Argentina)

afabra@exa.unrc.edu.ar

El maní es una leguminosa de gran importancia agronómica y económica, y su cultivo se concentra casi con exclusividad en la zona Centro-Sur de la Provincia de Córdoba. El monocultivo de esta leguminosa no es recomendable, ya que produce un gradual deterioro del suelo. Un manejo adecuado implica secuencias de rotación con gramíneas como maíz, sorgo o pasturas.

A partir de un estudio previo realizado con el objetivo de conocer la diversidad de bacterias que ocupan el interior de nódulos de maní, se obtuvieron aislamientos bacterianos que fueron caracterizados mediante secuenciación del ADNr 16S. Además de los bradirizobios simbiosis, se aisló una colección conformada por siete aislamientos de Gammaproteobacterias pertenecientes a los Géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*. Análisis posteriores demostraron que dichas bacterias son endófitos de nódulos, y no simbiosis genuinos. Ensayos de inoculación y coinoculación mixta (en conjunto con *Bradyrhizobium* sp. SEMIA 6144, cepa recomendada como inoculante), revelaron que los aislamientos son capaces de promover el crecimiento de plántulas de maní (Ibañez y col., 2009). Teniendo en cuenta la rotación de cultivos recomendada para esta leguminosa, resultó de interés continuar el estudio de estas Gammaproteobacterias, con el objetivo de profundizar su caracterización taxonómica, analizar la presencia de propiedades promotoras del crecimiento vegetal (PCV), determinar su habilidad para promover el crecimiento de plántulas de maíz y examinar su capacidad para colonizar el interior de las raíces de esta especie vegetal.

La profundización de la caracterización taxonómica se realizó mediante el análisis de los genes *mdh*, *phoE* y *gyrA* en tres aislamientos. Los resultados obtenidos fueron congruentes con la secuenciación del ADNr 16S. En cuanto a las propiedades PCV, se analizó la capacidad de solubilizar fosfatos (Mehta y Nautiyal, 2001) y producir Ácido Indol-Acético (AIA) (Bric y col., 1991) y sideróforos (Schwyn y Neiland, 1987) en los aislamientos de la colección. Los resultados demostraron que todos ellos fueron capaces de solubilizar fosfato; tres produjeron sideróforos y cinco demostraron producción de AIA. Un aislamiento presentó las tres propiedades analizadas. Finalmente, se determinó que cuatro aislamientos (uno perteneciente al Género *Enterobacter*, dos del Género *Klebsiella* y uno del Género *Pseudomonas*) fueron capaces de colonizar el interior de las raíces de las plántulas de maíz.

En conjunto, los resultados indican que los aislamientos endófitos de nódulos de maní presentan diferentes propiedades que promueven el crecimiento tanto de plántulas de maní como de maíz. Esto resalta la necesidad de profundizar el estudio de las bacterias endófitas, su dinámica poblacional y sus estrategias de supervivencia y permanencia en los suelos, dado que su potencial capacidad para interactuar con diferentes genotipos vegetales las hace particularmente útiles para su utilización en sistemas agronómicos que impliquen rotación de cultivos.

Subsidiado por CONICET, SECyT-UNRC, MINCyT Córdoba.

AT1_021 SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE RIZOBIOS NATIVOS ASOCIADOS AL FRIJOL CAUPÍ (*VIGNA UNGUICULATA*) EN LOS DEPARTAMENTOS DEL CESAR Y LA GUAJIRA (COLOMBIA)

Mendoza Labrador, Jonathan Alberto¹; Garrido Rubiano, María Fernanda¹; Bonilla Buitrago, Ruth Rebeca¹

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica (Colombia)
mgarrido@corpoica.org.co

El frijol Caupí (*Vigna unguiculata* Walp L.) es utilizado en baja escala en regiones tropicales subhúmedas en Colombia, aunque posee un gran potencial como alimento suplementario para el ganado bovino en épocas de escasez de alimento. La inoculación de esta leguminosa con rizobios aumenta el crecimiento vegetal debido a la fijación biológica de nitrógeno, la producción y la liberación de fitohormonas. Sin embargo, no existen antecedentes en Colombia sobre reportes de aislamiento e identificación de cepas nativas de rizobios asociadas a esta leguminosa. El objetivo de esta investigación fue aislar, caracterizar y verificar la capacidad de fijación biológica de nitrógeno, la producción de compuestos indólicos (ácido indolacético) y la nodulación de *V. unguiculata* bajo condiciones de invernadero. El aislamiento se realizó a partir de nódulos de cultivos establecidos en suelos de los departamentos de la Guajira y Cesar. De 23 aislamientos, 11 SON provenientes de La Guajira (RG01, RG02, RG03, RG04, RG05, RG06, RG07, RG08, RG09, RG10, RG11), los cuales presentaron crecimiento rápido y acidificación del medio de cultivo LMA con azul de bromotimol como indicador de pH. De los otros 12 aislamientos provenientes del Cesar, 9 (RC02, RC04, RC06, RC07, RC08, RC09, RC10, RC11, RC12) mostraron crecimiento lento y alcalinizaron el medio de cultivo, mientras QUE tres (RC01, RC03, RC05) presentaron crecimiento rápido y acidificación del medio de cultivo. Todos los aislamientos tuvieron la capacidad de fijar nitrógeno y sobresalió la cepa RG07 con una fijación de 8558.97nmolC₂H₄ h⁻¹ mL⁻¹. En relación con la producción de compuestos indólicos, las cepas provenientes de nódulos de La Guajira fueron positivas, mientras que las cepas del Cesar no presentaron producción de estos compuestos. El aislamiento RG11 presentó la mayor producción de compuestos indólicos (15.3566 µg/mL de ácido indolacético). Los 23 aislamientos fueron capaces de nodular la planta Y presentaron diferencias significativas (P ≤ 0,05) en las variables agronómicas: Longitud de la planta, longitud radical, peso seco de la parte aérea, peso seco radical, número y peso de los nódulos, respecto a las cepas de referencias BR29 y ATCC10324 de *Bradyrhizobium* sp. La caracterización molecular mediante el análisis de la secuencia 16S rDNA, reveló que las cepas RG07 y RG11 presentaron una identidad de 98 y 99% con el género *Rhizobium* sp. El presente estudio evidenció el rol de las bacterias de este género en la promoción de crecimiento vegetal infiriendo que pueden ser principios activos de nuevos inoculantes.

AT1_022 EVALUACIÓN DE RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL PARA FAVORECER LA SUSTENTABILIDAD DE LOS AGROECOSISTEMAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA

Echevarría, Romina¹; García, Patricia¹; Ronchi, Ana Lía¹; Grassano, Alicia¹

¹ Fac. Ciencias Exactas y Naturales- UNLPam (Argentina)
grassano@exactas.unlpam.edu.ar

Mejorar la fertilidad de los suelos es una de las estrategias más comunes para incrementar la producción agrícola en la región pampeana. Mantener alto nivel de nitrógeno (N) y fósforo (P) disponible, es el desafío más importante para ecologistas y productores agropecuarios, dentro del contexto de una agricultura sustentable. En el marco de la necesidad del desarrollo del incremento de la producción agrícola junto con la preservación del ambiente, la fijación biológica de nitrógeno (FBN) mediada por rizobios y otros microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PGPR) como los solubilizadores de fósforo son una fuente esencial y potencial de los nutrientes N y P, especialmente en las áreas de producción agrícola de suelos de la región pampeana, donde la agricultura demuestra un bajo consumo de fertilizantes y especialmente en zonas con limitaciones debido a distintos factores, entre ellos la salinidad. En base a lo expuesto anteriormente, el objetivo es analizar la simbiosis *Mesorhizobium loti*- *Lotus tenuis* y la acción de otras bacterias PGPR con el fin de su aplicación como cultivo alternativo para regiones agropecuarias con condiciones límites. Para cumplir con este objetivo se realizaron aislamientos de rizobios de suelos de la región semiárida pampeana con limitantes abióticas, en este caso salinidad, con conductividades superiores a 4 mS/cm, mediante el método de la planta trampa. Se obtuvieron nueve aislamientos los que se caracterizaron por su morfología, por tinción GRAM y por electroforésis de isoenzimas reveladas para α y β esterases se seleccionaron siete aislamientos diferentes frente a cepas patrones de *Mesorhizobium loti*. Con los aislamientos seleccionados se realizó un ensayo en cámara climatizada y se cuantificó peso seco de parte aérea, índice de eficiencia a la inoculación (IEI) e índice de eficiencia a la inoculación respecto del patrón (IEIP). También se les determinaron

parámetros biotecnológicos: velocidad de crecimiento (μ), tiempo de generación (θ) y producción de biomasa. En función de los resultados obtenidos se determinaron otras propiedades PGPR: producción de sideróforos, AIA, polisacáridos, cianidas, capacidad de solubilizar fosfatos, hidrolizar almidón y biocontrol. Se está llevando a cabo un ensayo en invernáculo con las bacterias fijadoras aisladas coinoculadas con una bacteria solubilizadora de fósforo

AT1_023 INFECTIVIDAD Y EFICIENCIA DE CEPAS NATIVAS E INTRODUCIDAS DE *Rhizobium leguminosarum* EN LA RELACIÓN SIMBIÓTICA CON *Vicia sativa*

Guzmán Arrausi, Francisco¹; Marcela, Montecchia²; Lorda, Graciela¹; Castaño, Carolina¹; Pagliero, Fabiola¹
¹ UNLPam - FCEyN (Argentina); ² INBA-CONICET, FAUBA (Argentina)
francisco_guzman85@hotmail.com

La mayoría de los suelos de la Región Semiárida Pampeana de la Argentina, presentan limitantes a la producción agropecuaria, siendo los más importantes el nitrógeno y el agua. Sin embargo, en los últimos años ha habido un corrimiento de la barrera de cultivos hacia regiones con suelos menos fértiles. Esta situación ha llevado a una utilización intensiva de fertilizantes y a la erosión de la capa fértil. En este contexto es donde cobran gran importancia los biofertilizantes microbianos, los abonos verdes y los cultivos de cobertura como alternativa todavía parcial, al uso de fertilizantes. Un cultivo propuesto como cultivo de cobertura que se adapta a la región es *Vicia sativa* que establece simbiosis con *Rhizobium leguminosarum*. En este trabajo, se quiso determinar la influencia de la densidad celular sobre la infectividad y efectividad de *R. leguminosarum* D70 (cepa recomendada para formular inoculantes), utilizando como soporte tierra estéril de la región o en microcosmos con tierra no estéril.

No se encontraron diferencias significativas entre inoculaciones con suspensiones de baja (10^7 UFC/ml) o alta (10^{10} UFC/ml) densidad celular. En los ensayos de microcosmos, no detectamos diferencias en la efectividad o infectividad en tratamientos inoculados con *R. leguminosarum* D70 y controles sin inocular.

La caracterización de las cepas presentes en los nódulos provenientes de estos ensayos por BOX-PCR reveló la presencia de cuatro cepas nativas diferentes de *Rhizobium leguminosarum* D70, capaces de nodular *Vicia sativa*.

AT1_024 EFECTO DE LOS PROMOTORES BIOLÓGICOS CEPA UP61 DE *Pseudomonas fluorescens* Y EM (MICROORGANISMOS EFECTIVOS) EN LA IMPLANTACIÓN DEL CULTIVO DE ALFALFA (*Medicago sativa* L.)

Irigoyen, Alfredo¹; Altier, Nora²; Formoso, Danie³; Lage, Martín⁴
¹ Instituto Plan Agropecuario (Uruguay); ² INIA (Uruguay); ³ Facultad de Ciencias Agrarias (UDE) (Uruguay); ⁴ Lage & Cia (Uruguay)
irigoyen@planagropecuario.org.uy

En Uruguay, la alfalfa (*Medicago sativa* L.) tiene destacada importancia en la intensificación de los sistemas de producción ganaderos y lecheros. Su expansión está restringida por enfermedades que interaccionan con factores ambientales y de manejo y que reducen su persistencia. Entre las enfermedades, las causadas por patógenos de suelo (género *Pythium*) afectan las raíces de las plántulas antes o después de la emergencia (*damping off*). La utilización de agentes de biocontrol ha logrado resultados promisorios en la implantación del cultivo. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de los promotores biológicos UP61 (cepa de *Pseudomonas fluorescens*) y EM (microorganismos efectivos) como alternativa al curasemilla (Metalaxil) para controlar los problemas de implantación. El 25/6/2010 en un suelo arenoso cercano a la ciudad de Florida (34° 5' 44 S, 56° 11' 58 W), se instaló un experimento a campo y en invernáculo. Los tratamientos fueron semilla inoculada con *Sinorhizobium melloti* cepa U143 y tratada con Metalaxil 35 CE; UP61; EM y un testigo sin tratar de alfalfa Estanzuela Chaná (85% de germinación y 5% de semilla dura), en bloques al azar con cuatro repeticiones. En invernáculo se utilizaron seis macetas por tratamiento con 29 semillas por maceta; a campo se sembraron por parcela cinco líneas de seis metros separadas a 0,17 cm. La densidad de siembra fue de 600 semillas m² (100 semillas por metro lineal). En las tres líneas centrales se intercalaron 12 cilindros de PVC de 75 mm de diámetro y 30 cm de largo con tres semillas por cilindro. Se realizaron conteos de emergencia de plántulas a los 8, 15, 30, 45, 60 y 90 días después de la siembra. Los conteos fueron analizados mediante pruebas no paramétricas, estableciéndose un valor de significación entre tratamientos de 5%. En las macetas y los cilindros se registró el peso fresco total por planta, el peso radicular, el peso foliar por diferencia y el largo de raíces. En invernáculo, las medias de los tratamientos fueron separadas por mínimos cuadrados (? < 0.05), mientras que a campo se aplicó un modelo mixto con los promotores como efecto fijo y los bloques como efecto aleatorio. En invernáculo, con Metalaxil se obtuvo un mayor número de plantas instaladas, de mayor peso y de

mayor longitud de raíz, mientras que los promotores biológicos mostraron un efecto intermedio, pero superior al testigo ($p < 0.05$). A campo, no se obtuvo respuesta a los promotores biológicos, siendo el testigo superior en las variables estudiadas ($p < 0.05$), aunque con una pérdida progresiva de plantas mayor en relación a los promotores UP61 y EM. Las precipitaciones y las heladas registradas podrían haber incidido en estos resultados, siendo el periodo de siembra un factor relevante para el establecimiento del cultivo.

AT1_025 EVALUACION ENZIMATICA DE NR, AIA-OX Y FOSFATASAS DE BACTERIAS DEL SUELO CON POTENCIAL USO COMO BIOINOCULANTE

Jofré Fernández, Ignacio¹; Espinoza Cerda, Sandra¹; Retamal Fontannaz, Javier¹; Espinoza Burgos, Constanza¹; Parada Ibañez, Maribel¹

¹ Universidad de La Frontera (Chile)
ignaziojf@gmail.com

La erosión en Chile afecta a una superficie de 47.300.000 ha, lo que equivale al 62%, concentrándose entre las regiones de Arica y Parinacota hasta la Región del Biobío y en las regiones del extremo sur del país, en la Región de La Araucanía corresponde aproximadamente al 63%. Dentro de las superficies nacionales destinadas a uso Agropecuario, 35.114.147 ha corresponden a suelos improductivos, lo que equivale al 46,4% . De las 36.393.219 ha (34,9%) consideradas agrícolas, solo 5 millones son arables. Por otro lado, cerca del 62% de la superficie agrícola se encuentra erosionada y con áreas bajo degradación severa, lo que para la agricultura tradicional constituye un factor negativo, sin embargo, estos se transformarían en recursos potenciales para desarrollar una agricultura más rentable y con mínimo impacto medioambiental. Es con este propósito que se ha iniciado una línea de investigación que incluye la búsqueda de bacterias con características bioquímicas de importancia agrónomas con el propósito de contribuir a la recuperación de suelos de baja calidad.

En esta investigación, se trabaja con 2 cepas aisladas en suelos de la región del Biobío (bMBTs 66 y 67) y 3 cepas pertenecientes al laboratorio de Microbiología (bMBTs 23, 42 y 90) aisladas en La Araucanía, con importantes propiedades como PGPRs, captadoras de metales pesados, nitrificación y producción de AIA. Algunas caracterizaciones Microbiológicas realizadas indican que ciertas cepas corresponderían a *Pseudomonas fluorescens* las cuales no son patógenas ya que las pruebas de hipersensibilidad resultaron negativas. Para asegurar su clasificación se están llevando a cabo los análisis moleculares para posterior secuenciación. El trabajo se centró en realizar las curvas de solubilidad de Fósforo. La capacidad del efecto mineralizante de las bacterias se midió usando la técnica "P-OLSEN". Los resultados indican que son bacterias altamente eficientes en la solubilización de Fósforo ya que de acuerdo al índice de concentraciones realizados a 2,5gr/L, 5gr/L y 7,5gr/L de Ca₃(PO₄)₂, se logró determinar que la cepa bMBT23 y 66 son las que presentan una mejor solubilización de Fósforo incluso con respecto a cepas de referencias como *Pseudomonas fluorescens*. Así también, se caracterizó la capacidad que poseen para reducir nitratos mediante actividad enzimática de Nitrato Reductasa (NR), evaluando la producción de Ácido indolacético (AIA); los resultados indican que la cepa bMBT23 es la que tiene una mayor actividad de nitrificación, confirmando su capacidad de recuperación de suelos. Estas utilizan diversas fuentes de carbono y tienen un rango de temperaturas que varían entre los 4 y los 42°C, características importantes como potencial bioinoculante.

AT1_026 ENDO-RICE: NUEVO PRODUCTO COMERCIAL PARA ARROZ.

Lage, Martín¹; Sartori, Juan Ignacio¹; Punschke, Karina¹; Mayans, María¹
¹ Lage y Cia S.A. (Uruguay)
lagement@lageycia.com

En los últimos años debido al impacto negativo de la agricultura en el ambiente y a los altos costos de producción se plantea el concepto de agricultura sostenible, definida como la manera de cultivar el suelo conservando al máximo a calidad medioambiental (Bonilla 2000). En este contexto se han venido produciendo biofertilizantes a base de microorganismos promotores del crecimiento vegetal. Las bacterias del género *Herbaspirillum* endófitas son fijadoras de nitrógeno y productoras de sustancias reguladoras del crecimiento (Figueredo 2008). La combinación de estos mecanismos puede contribuir a mejorar la eficiencia del uso de fertilizantes nitrogenados en cultivos de importancia agrícola. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar cepas de la bacteria diazotrófica *Herbaspirillum spp.* y formular un inoculante comercial capaz de promover el crecimiento en el cultivo de arroz. Se aislaron 113 endófitos diazotróficos de la parte aérea de plantas de arroz de diferentes variedades y estadios fenológicos (Döbereiner 1995). Once fueron identificados como presuntos *Herbaspirillum spp.* según sus características morfológicas y fisiológicas (Baldani 2000; Estrada 2001). De éstos, dos aislamientos (9.4 y 4.2) produjeron aumentos significativos en la biomasa

aérea de plantas de arroz crecidas en condiciones controladas. Ambos aislamientos se ensayaron en plantas cultivadas en invernáculo en presencia y ausencia de urea. La biomasa radicular de las plantas inoculadas con el aislamiento 4.2 fue significativamente mayor tanto en presencia como en ausencia del 50% de la dosis de urea utilizada por los productores (100 kg/ha). La secuenciación del gen 16S ARNr indicó que la cepa 4.2 pertenece al género *Herbaspirillum* spp. A partir de los resultados obtenidos se formuló un inoculante comercial con la cepa 4.2 denominado "ENDO-RICE". En la zafra 2008/2009 se evaluó el efecto de la inoculación de semillas de arroz con ENDO-RICE en campo. Se incluyeron tratamientos inoculados y sin inocular con diferentes dosis de fertilización nitrogenada. Se obtuvo un incremento de rendimiento promedio de 30 bolsas/ha debido a la inoculación sobre un promedio de los testigos sin inocular de 10.083 kg/ha, lo cual representó un 15% de aumento. Se repitió el mismo ensayo en la zafra 2009/2010 y se realizaron pruebas a nivel comercial en diferentes localidades. Se lograron respuestas a la inoculación que superaron al testigo en un rango entre 350 y 1100 kg/ha en el rendimiento de los cultivos inoculados respecto a los testigos sin inocular.

AT1_027 IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ENDÓFITOS-DIAZÓTROFOS ASOCIADOS A VARIETADES DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L.) CULTIVADAS EN URUGUAY Y SU CONTRIBUCIÓN A LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO

*Mareque, Cintia*¹; *Barloco, Claudia*²; *Taulé, Cecilia*¹; *Hackembruch, Fernando*³; *Sicardi, Margarita*²; *Battistoni, Federico*¹

¹ Laboratorio de Bioquímica y Genómica Microbianas. Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable". (Uruguay); ² Laboratorio de Microbiología del Suelo. Facultad de Ciencias-UdelaR (Uruguay); ³ Departamento Agrícola. Alcoholes del Uruguay S.A. (ALUR) (Uruguay)
cmareque@iibce.edu.uy

Uruguay se ha fijado como meta la construcción de una matriz energética diversificada con el empleo de energías propias y renovables. Como consecuencia de esta política, se ha estimulado la cadena de producción de materias primas nacionales para obtener energía, incluyendo el cultivo de caña de azúcar. Este cultivo multipropósito se utiliza como alimento animal y humano, para la producción de bioetanol así como para la generación de energía. La caña de azúcar necesita un elevado suministro de fertilizante químico nitrogenado para su óptimo desarrollo, provocando altos costos de producción así como graves problemas ambientales.

Estudios en Brasil han demostrado que ciertas variedades de caña de azúcar son capaces de obtener hasta un 60% de sus necesidades de nitrógeno mediante la Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN), a través de bacterias endófitas-diazótrofas, aún no identificadas.

Diversos diazótrofos se han aislado de la rizósfera y de los tejidos internos (endófitos) de plantas de caña de azúcar. En particular se ha demostrado que cuando *Gluconacetobacter diazotrophicus* se inocula a plantas micropropagadas de caña de azúcar se promueve el crecimiento de la misma, mediante la FBN y la producción de fitohormonas.

El objetivo de este trabajo es determinar la contribución de la FBN en distintas variedades de caña de azúcar cultivadas en Uruguay así como aislar, identificar y caracterizar los posibles endófitos cultivables asociados a estas variedades.

Mediante la técnica de dilución isotópica del ¹⁵N se determinó que las variedades de caña de azúcar estudiadas obtuvieron contribución por parte de la FBN entre el 20.9 y el 58.8%.

Se construyó una colección de 598 aislamientos, a partir de tallos esterilizados superficialmente provenientes de las diferentes variedades en estudio, capaces de crecer en medios semisólidos sin N. Mediante PCR del gen *nifH* se detectaron los posibles aislamientos diazótrofos en la colección. Éstos fueron clasificados genéticamente por ERIC-PCR, seleccionándose al menos uno de cada grupo para una caracterización más profunda. Diversas características promotoras del crecimiento vegetal, como la FBN, la producción de fitohormonas (AIA), la solubilización de fosfatos así como la producción de sideróforos fueron ensayadas en 35 clones *nifH* positivos seleccionados. Con la finalidad de identificar dichos aislamientos, se amplificó por PCR y secuenció el gen *ADNr 16S*, identificándose los géneros: *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Xanthomonas*, *Acinetobacter*, *Rhanelia*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Shinella*, *Agrobacterium* y *Achromobacter*.

Por otra parte, ocho aislamientos así como la mezcla de los mismos están siendo evaluados en ensayos en invernáculo para determinar su capacidad de promover el crecimiento vegetal en caña de azúcar.

Financiación: INIA-FPTA, ANII, PEDECIBA

AT1_028 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN ESTABLECIDA ENTRE *Parapiptadenia rigida* (ANGICO) Y β -RIZOBIOS

*Mareque, Cintia*¹; *Costa, Daniela*¹; *Zabaleta, María*¹; *Battistoni, Federico*¹; *Fabiano, Elena*¹

¹ Laboratorio de Bioquímica y Genómica Microbianas. IIBCE-MEC (Uruguay)
cmareque@iibce.edu.uy

El angico es una leguminosa arbórea nativa con alto potencial para la forestación debido a sus características maderables, su rápido crecimiento y contribución a la recuperación de suelos degradados. En trabajos recientes hemos demostramos que el Angico es nodulado eficientemente por cepas pertenecientes a los géneros *Cupriavidus*, *Burkholderia* y *Rhizobium*. Más aún, encontramos que en los suelos uruguayos, las bacterias pertenecientes a los géneros *Cupriavidus* o *Burkholderia* (β -rizobios) son los microsimbiontes predominantes asociados a este árbol. Diferentes cepas analizadas pertenecientes a estos grupos muestran cierta especificidad de hospedero, siendo capaces de nodular *Mimosa pudica*, pero no otras leguminosas ensayadas (*Trifolium repens* y *Medicago sativa*).

Este trabajo tiene como objetivo avanzar en el conocimiento de la interacción establecida entre estos β -rizobios y sus leguminosas hospederas (*P. rigida* y *M. pudica*). En particular, nos centramos en el estudio de la fisiología de la nodulación y la capacidad de promover el crecimiento vegetal de las siguientes cepas: *Burkholderia* sp 9.4, *Burkholderia* sp. 4.13, *Cupriavidus* sp. 5V12 y *Cupriavidus* sp.5.5., cepas seleccionadas en base a su propiedad de mejorar el crecimiento de angico en ensayos realizados en invernáculo.

Se observó que en condiciones gnotobióticas el agregado de KNO₃ en el medio de crecimiento de las plantas, afectó en forma diferente la formación de nódulos dependiendo de la leguminosa hospedera y del género bacteriano. Cuando se emplearon plantas de angico, se observó que el agregado de KNO₃ retardó la velocidad de aparición de nódulos en plantas inoculadas con cepas de *Cupriavidus* mientras que la nodulación fue inhibida completamente cuando las plantas fueron inoculadas con cepas pertenecientes al género *Burkholderia*. Sin embargo, cuando el ensayo se realizó con plantas de *M. pudica*, ambos géneros bacterianos fueron capaces de formar nódulos aún en presencia de KNO₃. Es interesante resaltar que la cinética de nodulación fue mucho mayor cuando la planta hospedera era *M. pudica*. Para evaluar la promoción del crecimiento vegetal, se comparó el peso seco de la parte aérea de las plantas inoculadas con respecto al de plantas no inoculadas o fertilizadas con KNO₃. En este caso los ensayos se realizaron con las cepas *Cupriavidus* sp. 5V12 o *Burkholderia* sp. 4.13. Los resultados obtenidos muestran claras diferencias en la capacidad de promover el crecimiento vegetal dependiendo de la leguminosa ensayada.

Financiación: ANII y PEDECIBA.

AT1_029 NUEVOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO DE LEGUMINOSAS: LAS BACTERIAS DEL GENERO *Delftia*

*Braña, Victoria*¹; *Morel, María*¹; *Castro-Sowinski, Susana*²

¹ Unidad de Microbiología Molecular, IIBCE (Uruguay); ² Unidad de Microbiología Molecular, IIBCE, Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias (Uruguay)
mmorel@iibce.edu.uy

Las bacterias del género *Delftia* son Beta-Proteobacterias reconocidas por su capacidad de degradar tóxicos orgánicos e inorgánicos, así como de fijar el nitrógeno atmosférico. Durante la búsqueda de nuevas bacterias promotoras del crecimiento vegetal, nuestro equipo de trabajo aisló tres microorganismos pertenecientes al género *Delftia* (3C, 6C y JD2). La caracterización de las propiedades promotoras del crecimiento vegetal de *Delftia* JD2 fue publicada en este año (Morel y col., 2011). Se demostró que JD2 es capaz de: 1) producir ácido indol-acético y sideróforos, 2) fijar nitrógeno en medio semisólido libre de nitrógeno, cuando se le agrega vanadio en lugar de molibdeno, y 3) promover el crecimiento de alfalfa y trébol en ensayos de inoculación y co-inoculación con los rizobios de los inoculantes comerciales, en condiciones gnotobióticas. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar las propiedades bioquímicas de promoción de los aislamientos 3C y 6C, y determinar el potencial promotor del crecimiento vegetal de los tres aislamientos de *Delftia* en plantas de trébol, en ensayos realizados en invernáculo. Se verificó la producción de sideróforos y ácido indol-acético en los tres aislamientos de *Delftia*, así como la capacidad de crecer en medio semisólido libre de nitrógeno. Los estudios de promoción del crecimiento de trébol se llevaron a cabo en macetas conteniendo una mezcla de tierra-arena-vermiculita. Las mismas se regaron alternadamente, hasta capacidad de campo, con agua, medio mineral y solución de hiperfosfato. El ensayo se realizó dos veces. A los 45 días de inoculación se determinó el peso seco de la parte aérea y de raíces. Los datos se sometieron a análisis estadístico. Los resultados muestran un aumento significativo en el crecimiento de trébol cuando las plantas se inoculan con cualquiera de los aislamientos de *Delftia*, comparado con los tratamientos sin inoculación ni fertilización nitrogenada. Por otro lado, los resultados sugieren un efecto positivo de la co-inoculación con JD2 y U204 (*Rhizobium trifolii* U204), comparado con la inoculación simple con el rizobio. Estos

resultados nos alientan a seguir trabajando con estos microorganismos. El trabajo futuro se centrará en la puesta a punto de la relación de bacterias que determine el mayor efecto promotor del crecimiento vegetal. Los autores agradecen a PEDECIBA y ANII * Morel y col. Arch Microbiol (2011) 193:63-68

AT1_030 EVALUACIÓN DE MOMENTOS DE INOCULACIÓN CON *Azospirillum brasilense* AZ 39 Y SU INTERACCIÓN CON FUNGICIDAS EN TRIGO

García, Julia Elena¹; Puente, Mariana Laura¹; Perticari, Alejandro¹

¹ Laboratorio BPCV, IMYZA, INTA Castelar (Argentina)
aperticari@cniia.inta.gov.ar

La inoculación con *Azospirillum* en cultivos de trigo puede ser realizada tanto al momento de la siembra como de forma anticipada. Debido a que esta técnica está siendo implementada en los sistemas productivos, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de *A. brasilense* en plántulas de trigo según el momento de inoculación y su interacción con diferentes fungicidas usados para este cultivo. Se realizó un ensayo bajo condiciones controladas con un diseño en bloques completos al azar con 4 repeticiones en un arreglo factorial con dos factores: tratamientos con *Azospirillum* (1-sin inocular, 2-inoculado a la siembra, 3-15 días y 4-30 días previo a la siembra) y tratamiento con fungicida (1-sin curar, 2-Difenoconazole, 3-Triadimenol, 4-Prothioconazole+Tebuconazol, 5-Imidacloprid+Tebuconazol). Se inoculó con 10 mL/Kg de semilla de un inoculante a base de *A. brasilense* Az39 cuyo título era 1·10⁹ ufc·mL⁻¹. La aplicación de los fungicidas fue previa a la inoculación utilizando la dosis recomendada por los fabricantes. Las semillas se sembraron en macetas que contenían vermiculita estéril y a los 15 días después de la siembra se determinó el peso seco de parte aérea (pspa) y radicular (psr). En el pspa hubo efecto significativo entre los momentos de inoculación (p=0.02) y no fueron significativos entre los diferentes fungicidas ni tampoco así la interacción entre factores. En este parámetro las plantas inoculadas 30 días previo a la siembra presentaron un incremento promedio del 25% con respecto al resto de los tratamientos. En psr el efecto de momento de inoculación y tratamiento de semilla fue altamente significativo (p=0.002 y p<0.0001 respectivamente), y también fue significativa la interacción entre ambos factores (p=0.0047). En los tratamientos sin inocular, inoculados a la siembra y 15 días previo a la siembra combinados con el fungicida Triadimenol se obtuvieron plántulas con un menor psr con respecto al resto de los tratamientos. Lo mismo se observó a en las plántulas del tratamiento inoculado 15 días previo a la siembra con Prothioconazole+Tebuconazol. Dentro de los tratamientos inoculados a los 30 días no hubo diferencias en psr entre los diferentes fungicidas. Como conclusión se pudo observar una mejora debido a la inoculación anticipada y existió una compatibilidad con los fungicidas evaluados cuando se anticipa la inoculación 30 días. Esta técnica le otorgaría al productor mayor flexibilidad al momento de inoculación y la posibilidad de continuar con los tratamientos fungicidas que habitualmente emplea.

AT1_031 LA INOCULACIÓN CON *Bradyrhizobium japonicum* MEJORA LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DE N₂ Y LA PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DE SOJA EN LA REGIÓN PAMPEANA ARGENTINA

Piccinetti, C.¹; Enrico, J.M.²; Capurro, J.E.²; Murúa, L.A.³; Martínez, L.A.²; Resch, G.F.⁴; Perticari, A.¹

¹ IMYZA, CNIIA-Castelar (Argentina); ² EEA Oliveros, Sta. Fe (Argentina); ³ EEA Manfredi, Cba (Argentina); ⁴ EEA Marcos Juárez, Cba (Argentina)
aperticari@cniia.inta.gov.ar

El cultivo de soja ocupa más del 50% de la superficie y de la producción en la Región Pampeana Argentina. La importancia de este cultivo en la economía del productor es indudable y por este motivo la soja es incluida con alta frecuencia en las rotaciones. En este contexto es oportuno conocer aspectos nutricionales del cultivo y en particular como se encuentra su provisión de N y si esto se relaciona con sus niveles productivos. Como la soja es una leguminosa de forma automática consideramos la asociación simbiótica como una fuente importante de N. Esto incluye la cepa de rizobio específica (*Bradyrhizobium japonicum*), los inoculantes y la práctica agronómica inocular. En Argentina se estima que más del 70% de los lotes productivos de soja se inoculan. El objetivo estudio fue comparar los efectos de inocular una cepa pura y/o la mezcla de dos cepas de *B. japonicum* sobre la producción y la nutrición nitrogenada de soja en la región pampeana. Los ensayos se desarrollaron durante las campañas 2004 a 2007. Los tratamientos fueron 3: T1: Control; T2: Inoculado cepa E109 y T3: mezcla SEMIA5079+E109 (50% c/u). Las cepas y el inoculante fueron provistos por elaborados *ad hoc* en el laboratorio BPCV-IMYZA. Se inoculó sobre semillas con no menos de 5·10⁵ ufc/semilla. Los 7 sitios estudiados eran rotados con soja y estaban ubicados en las localidades de Alberdi (Buenos Aires), Runciman, Cañada de Gómez, Casilda y Oliveros (Santa Fe), Huinca Renancó y Jesús María (Córdoba). El diseño empleado fue de bloques completos al azar con 4 repeticiones; las parcelas tenían 5

hileras de 5 m de longitud, distanciadas a 0,52 m. Se completo según requerimiento todos los aspectos sanitarios y nutricionales necesarios para una buena condición productiva. Se cuantificó las siguientes variables: 1-Biomasa aérea total (BAT), 2- N total (Nt, micro-kjeldal), 3- Porcentaje de FBN (%FBN, δ¹⁵N por el método de abundancia natural), 4- N derivado de FBN (NdFBN), 5- N del suelo (NS) en el momento de máxima acumulación de materia seca de soja (R6), 6- Rendimiento de granos (RG) y 7- Biomasa de nódulos por planta (Nódulos). El análisis de los resultados indica efectos significativos al nivel al nivel de P: 0.05 de la inoculación con la cepa E109 sobre la producción de biomasa, el N total acumulado, la cantidad de N fijado, el peso y número de nódulos y el rendimiento en grano. No hay efectos negativos o mayor extracción de N desde el suelo con la inoculación de esta cepa. La inoculación resulta en una herramienta útil, simple, económica y eficaz que apunta a crear condiciones de sustentabilidad en esta región.

AT1_032 EVALUACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO AISLADAS EN LA REGIÓN DE LA ARAUCANÍA CON POTENCIAL USO COMO BIOINOCULANTE.

Peña Astorga, Nelson¹; Mendoza Cid, Daniela¹; Gallardo Benavente, Carla¹; Barra Sanhueza, Barbara¹; Viscarra Alvarez, Tamara¹; Carrillo Beltran, Diego¹; Sanhueza Sanhueza, Roció¹; Parada Ibañez, Maribel¹

¹ Universidad de la Frontera (Chile)
n.pena@ufromail.cl

Son conocidos los beneficios que otorgan las bacterias de vida libre, denominadas Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPRs), las cuales se han hecho necesarias debido a la necesidad de disminuir el uso de fertilizantes químicos en los cultivos y especialmente en frutales, dado que al ser productos de exportación deben regirse de acuerdo a estándares internacionales cada vez mas exigentes, mas aun cuando la población en general busca productos mas sanos y naturales.

Con el propósito de obtener cepas PGPRs autóctonas que puedan ser utilizadas como potenciales bioinoculantes, se ha hecho una selección de bacterias promotoras del crecimiento a través de ensayos en *Lactuca sativa* (Lechuga), inoculadas con 6 bacterias seleccionadas en la Región de la Araucanía, clasificadas como bMBTs: 23, 34, 35, 36, 42 y 90, cuyos resultados muestran diferencias significativas entre los tratamientos inoculados y el control, así también en ensayos preliminares con *Triticum aestivum* se observan claras diferencias entre las plantas inoculadas y el control. Se evaluó además, su patogenicidad a través de un ensayo de hipersensibilidad utilizando *Pelargonium hortorum* (cardenal), el cual resultó negativo a las 48 horas y a los 7 días de evaluación. Ensayos preliminares en otras plantas también dieron negativas, lo que indica que las cepas no son patógenas vegetales. Los resultados de la caracterización de estas bacterias indican que utilizan diferentes fuentes de carbono sin diferencias aparentes como son la glucosa, dextrosa, lactosa, fructosa, sacarosa y manitol. En cuanto a la presencia de nutrientes se ha observado que tienen un mejor crecimiento en medio de cultivo TSA y los resultados de temperatura indican que las cepas bMBTs crecieron hasta los 42°C, con excepción de la cepa bMBT42 que solo crece hasta los 28°C, la bMBT23 y bMBT90 inhiben su crecimiento a 4°C pero son fácilmente recuperables a temperatura ambiente, lo cual permite conservarlas como inoculantes líquidos. Las pruebas bioquímicas realizadas para la identificación de las cepas en estudio no han sido concluyentes por lo que se trabaja paralelamente en la identificación molecular.

AT1_033 RESPUESTA DE *Medicago sativa* A LA INOCULACIÓN EN URUGUAY

Rebuffo, Mónica¹; Cuitiño, María José¹; Monza, Jorge²; Arrospe, Guillermo³; Sanjuan, Juan⁴

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, INIA La Estanzuela, Colonia (Uruguay); ² Facultad de Agronomía, UDELAR, Montevideo (Uruguay); ³ CALISTER S.A., Montevideo (Uruguay); ⁴ CSIC Estación Experimental del Zaidin, Granada (España)
mrebuffo@inia.org.uy

La alfalfa es la leguminosa con mayor persistencia y producción de forraje en predios lecheros de Uruguay cuando se logra una buena implantación. Los factores que pueden disminuir el stand de plantas son numerosos, entre ellos la nodulación efectiva en los primeros meses de vida de la pradera. El 23 de Abril 2009 se instaló un ensayo en un suelo con historial de praderas con alfalfa en INIA La Estanzuela (Colonia, Uruguay) para determinar la incidencia de la inoculación con la cepa de *Sinorhizobium meliloti* U-143 en el establecimiento, grado de nodulación y productividad del cultivar 'Estanzuela Chaná'. El diseño factorial de 3 métodos de inoculación (testigo sin inocular - T0, dosis comercial - T1, 5 veces la dosis comercial -T2) y 2 métodos de siembra (voleo sin laboreo y en siembra directa en líneas a 17 cm) se sembró en parcelas de 5.10 m² en bloques al azar con 4 repeticiones a una densidad de 16 kg semilla/ha. El inoculante comercial formulado en turba por la empresa CALISTER S.A. se adhirió

con ASStick-Plus aplicado a muestras de 500 g de semilla siguiendo el procedimiento recomendado comercialmente. La implantación evaluada en 4 cuadros de 0.025 m² por parcela fue 307 plántulas/m² 45 días post siembra y no se observaron diferencias debido a los tratamientos de inoculación. En noviembre 2009, 7 meses post siembra, se tomaron muestras de las plantas para evaluar nodulación y tamaño de planta. La nodulación se evaluó en 4 sectores por tipo de raíz y distancia desde la corona; principal y laterales, superior e inferior (desde la corona hasta 5 cm y > 5 cm). La inoculación (T1 y T2) aumentó la biomasa de raíz en comparación con T0 (2.13 y 2.47 vs 1.31 g/planta), con similar respuesta en el tamaño por planta, lo que se reflejó en una alta respuesta en el rendimiento de forraje (1549 vs 3153 y 3238 kg MS/ha para T0, T1 y T2, respectivamente). La inoculación aumentó la nodulación por planta (0.65 vs 10 nódulos/planta para T0 y T1). El incremento en la dosis del inoculante no se tradujo en mayores rendimientos de forraje en el 1º año, ni cambios significativos en la nodulación. La proporción de plantas noduladas fue 37% para T0, con pocos nódulos pequeños, mientras que 91% de las plantas T1 estaban noduladas con 10 veces mayor número de nódulos 3 veces más grandes que T0. La alta respuesta a la inoculación refleja la escasa prevalencia de cepas efectivas para alfalfa en suelos agrícolas con historia de cultivos de alfalfa previos y con pH ligeramente ácido (5.6-5.8). Agradecimientos: Investigación co-financiada por INIA y FONTAGRO (Proyecto FTG-787/2005 LESIS "Leguminosas para Sistemas Sustentables").

AT1_034 CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NO AVANÇO TECNOLÓGICO DO MELHORAMENTO GENÉTICO DO FEIJÃO-CAUPI

Maria Cardoso Mota de Alcantara, Rosa¹; Ribeiro Xavier, Gustavo²; Gouvêa Rumjanek, Norma²; de Moura Rocha, Maurisrael¹

¹ Embrapa Meio-Norte (Brasil); ² Embrapa Agrobiologia (Brasil)
gustavo@cnpab.embrapa.br

O programa de melhoramento do feijão-caupi teve significativos avanços tecnológicos no Brasil, mas constata-se que até recentemente o referido programa apresentava uma lacuna com relação à fixação biológica do nitrogênio (FBN), mesmo sendo um dos critérios utilizados em outras estratégias de melhoramento de leguminosas de interesse econômico. Apesar de sua importância econômica e social e amplo cultivo nas regiões Norte e Nordeste, a produtividade de grãos secos do feijão-caupi é muito baixa, na faixa de 300 a 400 kg.ha⁻¹, abaixo do potencial da cultura. Ainda assim, seu cultivo é estratégico para essas regiões dada as elevadas características nutricionais, rusticidade, adaptabilidade à baixa fertilidade do solo e tolerância à seca, temperaturas elevadas e salinidade. O somatório desses efeitos implica na necessidade de tecnologias sustentáveis que proporcionem aumento da sua produtividade e tornem mais estáveis as possibilidades de colheitas diante das adversidades climáticas. O estudo da base genética das cultivares lançadas nos últimos dez anos indicou que todo o germoplasma do feijão-caupi provém de 56 progenitores. Apesar de reconhecido os benefícios do processo de FBN na interação entre o feijão-caupi e estirpes de rizóbios, com patamares de produtividade semelhantes e até superiores a doses de 80kgN ha⁻¹, estudos dessa natureza são ainda iniciativas singulares e restritas à profissionais de áreas ligadas a microbiologia no Brasil. Nesse sentido, a otimização da FBN através da interação entre feijão-caupi e rizóbio no melhoramento genético da cultura do feijão-caupi, pode contribuir para a obtenção de cultivares mais produtivas. Para tanto foram realizados ensaios em casa de vegetação e em campo, avaliando parâmetros da FBN e componentes de produção. Os ensaios em casa de vegetação foram realizados na Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, RJ e os de campo na Embrapa Meio-Norte, em Teresina, PI. O delineamento experimental dos experimentos foi em blocos casualizados com três repetições, sendo avaliados 16 progenitores de feijão-caupi e quatro estirpes de *Bradyrhizobium* (BR 3267, BR 3299, BR 3262 e INPA 03-11B). Os resultados indicaram que o progenitor Alagoano foi superior aos demais, quando associado à estirpe BR 3267, em número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca da parte aérea, sob condições assépticas. Em condições de campo, os genótipos TVu 1190, TVu 59, TVx 3777-04E e TVx 4659-03E em interação com a estirpe BR 3267 foram superiores em massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e nitrogênio acumulado na parte aérea. O progenitor Alagoano foi superior aos demais em peso de 100 sementes, peso e comprimento de vagem, peso de grãos por vagem e número de grãos por vagem, sob condições de campo. Na quantificação da FBN, os progenitores TVu 1190 e Alagoano apresentaram melhores resultados, independentemente, da estirpe associada.

AT1_035 MANEJO DE MICROORGANISMOS FIJADORES DE NITROGENO PARA FAVORECER EL RENDIMIENTO DE ALFALFA EN SUELOS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA QUE SUFRIERON SALINIZACION POR ANEGAMIENTO

Martin, Pedro¹; Azcarate, Silvana¹; Grassano, Alicia¹; Scarone, Jorge²; Ronchi, Ana Lia¹

¹ Fac. Ciencias Exactas y Naturales - UNLPam (Argentina); ² Fac. de Agronomía - UNLPam (Argentina)
alronchi@exactas.unlpam.edu.ar

En los agroecosistemas de la provincia de La Pampa, la alfalfa, debido a su calidad de forraje, hábito de crecimiento, perennidad, capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico y posibilidad de crecer en un amplio rango de condiciones edafoclimáticas, participa en un gran porcentaje del área de cultivo que se concentra en la región pampeana subhúmeda y semiárida, la que ha tenido alternancia de ciclos con alta y baja precipitación pluvial, por lo que muchas áreas han visto salinizadas sus tierras. Los procesos naturales de Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) juegan un importante rol en la activación de los sistemas agrícolas sustentables por su beneficio ambiental. El incremento de su aplicación puede mitigar la necesidad del uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos con su consiguiente efecto benéfico al ciclo del nitrógeno, el calentamiento global y el saneamiento de las aguas subterráneas y superficiales. La FBN, aliada a algunas prácticas de cultivos de bajo costo, representa una de las pocas opciones de rescatar la productividad de los suelos degradados y permitir la práctica de una agricultura sustentable. Este proceso depende, básicamente, de la acción de los microorganismos en conjunto con las plantas. En función de los antecedentes mencionados el objetivo de este trabajo es evaluar el incremento en el rendimiento de cultivos de alfalfa mediante la acción de microorganismos fijadores de nitrógeno aislados de zonas que estuvieron anegadas durante el tiempo necesario para la salinización de sus tierras. Para ello se seleccionan diferentes zonas de la provincia que cumplen con la situación planteada. De los suelos de las mismas, recolectados en dos épocas diferentes del año, se aíslan bacterias simbiotas de alfalfa para lo cual se realiza un ensayo en cámara climatizada, en tubos con medio Jensen y semillas de alfalfa variedad Aurora G6. Los aislamientos se caracterizan por distintas técnicas microbiológicas, analíticas, bioquímicas y agronómicas. Con los aislamientos más promisorios de dos de las zonas seleccionadas y con una cepa patrón se prepararon inoculantes sólidos los que a los tres meses muestran similitud entre la sobrevivencia de la cepa patrón y las nativas. Con los de otra zona se están llevando a cabo ensayos para determinar rendimiento de materia seca, en invernáculo y a campo. En el ensayo en invernáculo se utilizan tubos de PVC con suelo estéril y se aplica un diseño estadístico completamente aleatorizado con seis repeticiones. En el ensayo a campo se utiliza un diseño estadístico de bloques al azar con seis repeticiones en parcelas de 1 x 3 m con seis surcos cada una. Cualitativamente podemos observar que las plantas inoculadas con algunos aislamientos nativos presentan mayor crecimiento que las inoculadas con la cepa control. En base a esto los aislamientos seleccionados podrían ser empleados para la producción de inoculantes para zonas cuyos suelos han sufrido un proceso de salinización.

AT1_036 NITROGEN FIXATION IN COFFEE AGROECOLOGICAL SYSTEMS OF PUERTO RICO

Avilés, Ixia I.¹; Schröder, Eduardo C.¹

¹ University of Puerto Rico, Mayaguez (Puerto Rico)
eschröder5596@yahoo.com

Coffee agroforestry systems have been promoted because they have smaller environmental impact than sun grown coffee. The majority of shade grown coffee systems use leguminous trees capable of fixing N₂ from the atmosphere, which can reduce the use of chemical fertilizer. In this study, biological nitrogen fixation was evaluated in leaf litter, lichens, epiphylls and in soil of three ecosystems, sun grown coffee, shade coffee and secondary forest in Jayuya, Lares and Las Marias of Puerto Rico. The acetylene reduction assay (ARA) was used to measure biological nitrogen fixation for a period of six months. N₂ fixation in leaf litter at the tree sites was significantly higher in the forest ecosystem, 71.8 mg N ha⁻¹ period⁻¹, than in the coffee agrosystems (34.3 mg N ha⁻¹ period⁻¹). At Jayuya there was significantly higher N₂ fixation in August and September in the forest ecosystem. Coffee phyllosphere N₂ fixation was similar throughout the six month period and through the agrosystems at the three sites. Average N₂ fixation by lichens was 2.75 µg N g dry weight⁻¹ period⁻¹, similar throughout the six month period and throughout the ecosystems at all sites. N₂ fixation in soil 0.5 m from *Inga vera* tree at Jayuya and Las Marias was 1.3 times higher than N₂ fixation in soil 1.2 m from *I. vera*. Soil N₂ fixation at shade coffee system was two times higher than sun grown coffee soil. At Lares, no significant differences were found between ecosystems. N₂ fixation in all components studied was lower than other studies. These results suggest that coffee agroecosystems have less capacity of biological N₂ fixation than other natural ecosystems, but shaded systems add more N.

AT1_037 EFECTO DEL RIEGO CON VINAZA SOBRE LA COMUNIDAD MICROBIANA DEL SUELO EN PLANTACIONES DE CAÑA AZUCARERA

Senatore, Daniela^{1,2}; Bajsa, Natalia^{1,3}; Saravia, Verónica²; Fernández Garello, Pablo^{1,2}; Bettucci, Lina⁴; Lupo, Sandra⁴; Musso, Marcos⁵; Arias, Alicia¹; Loperena, Lyliam²

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana - Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (Uruguay); ² Departamento de Bioingeniería del Instituto de Ingeniería Química - Facultad de Ingeniería (UDELAR) (Uruguay); ³ Sección Bioquímica - Facultad de Ciencias (UDELAR) (Uruguay); ⁴ Laboratorio de Micología - Facultad de Ciencias (UDELAR) (Uruguay); ⁵ Departamento de Geotécnica del Instituto de Estructuras y Transporte - Facultad de Ingeniería (UDELAR) (Uruguay)
nanisen@gmail.com

La vinaza es un líquido rico en materia orgánica, potasio, calcio, magnesio y azufre que se obtiene como residuo en la producción de etanol. Ésta es usada en diferentes países para riego dado su alto contenido de materia orgánica y nutrientes necesarios para el crecimiento vegetal.

Los microorganismos influyen en el crecimiento de las plantas participando en ciclos biogeoquímicos, en procesos que aumentan la disponibilidad de nutrientes y regulando su crecimiento produciendo hormonas, causando enfermedades o antagonizando patógenos. Al aplicar vinaza, la actividad microbiológica del suelo actuaría transformándola y ésta podría afectar a los microorganismos que se encuentran allí. El objetivo general es evaluar los cambios en la microbiota del suelo tratado con vinaza, determinando su efecto sobre la abundancia y actividad microbiana.

En esta primera etapa se caracterizaron dos suelos para cultivo de caña en donde se instaló un ensayo para evaluar el efecto del riego con vinaza. Las muestras se tomaron de suelos L1 (pradera parda) y B1 (litosoles, regosoles) y de praderas naturales para utilizar como referencia. Se cuantificaron diferentes grupos de microorganismos por la técnica de recuento en placa y NMP; se estudió su actividad por respirometría.

Los resultados muestran que en ambos suelos la cantidad de bacterias heterótrofas fue similar, mientras que la población de actinobacterias fue mayor en el suelo B1. En el suelo L1, la abundancia de actinobacterias de la pradera natural fue mayor que en los suelos cultivados; sin embargo, en la cantidad de bacterias heterótrofas no se observaron diferencias. Se estudiaron también las bacterias involucradas en el ciclo del nitrógeno. En ambos suelos se observó una gran cantidad de bacterias amonificantes (entre 2×10^6 y 5×10^7 g/suelo) y desnitrificantes (entre 1×10^6 y 1×10^7 g/suelo). La abundancia de las bacterias nitrificantes (nitrificantes y nitrificantes) fue baja, particularmente las nitrificantes que fueron detectadas en algunas muestras. La cantidad de hongos y levaduras detectados fue aproximadamente de 1×10^5 y 1×10^4 UFC/g suelo, respectivamente. Se identificaron los hongos de los grupos más representativos.

La actividad microbiana medida por respirometría no mostró diferencias entre los suelos B1 y L1, aunque se verificó un menor valor con respecto a las praderas naturales.

Estos estudios se continuarán durante un año analizando los suelos luego de la aplicación de vinaza para evaluar cambios en la microbiota del suelo. Se realizarán además estudios moleculares para considerar los microorganismos no cultivables.

Agradecimientos: técnicos de ALUR por el apoyo a la ejecución de este proyecto.

Financiación: Proyecto CSIC de Vinculación ANCAP - UDELAR

AT1_038 SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS NATIVAS DE RIZOBIOS, ASOCIADAS A LEUCAENA LEUCOCEPHALA WIT (LAM.) EN EL VALLE DEL CESAR Y LA GUAJIRA (COLOMBIA)

Sánchez, Nancy Jacqueline¹; Bonilla Buitrago, Ruth Rebeca¹

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica (Colombia)
najasa71@yahoo.com

La utilización de prácticas agronómicas no adecuadas en el manejo de los suelos ganaderos de La Costa Caribe Colombiana ha conllevado a la reducción de su capacidad productiva, y a la afectación de la sostenibilidad económica, social y ambiental de la actividad ganadera. El objetivo del este estudio fue obtener rizobios nativos promisorios asociados a *Leucaena leucocephala*, mediante la caracterización de sus actividades de promoción de crecimiento vegetal determinando la capacidad de fijación de nitrógeno y de producción de indoles totales. Para su aislamiento, se tomaron nódulos de las plantas de estudio en suelos de los departamentos de la Guajira y del Cesar. De un total de 28 aislamientos se seleccionaron cinco provenientes del departamento del Cesar y siete de la Guajira; se tomó como criterio básico los resultados obtenidos a nivel de invernadero donde las cepas seleccionadas promovieron crecimientos superiores al 30% con respecto al control. Las cepas RC02 y RG02, presentaron los mayores valores en la prueba de reducción de acetileno con valores de 18,56 y 16,25 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4$ nódulos planta⁻¹ h⁻¹ y en la producción de compuestos indólicos de 47,9 y 43,49 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente. La caracterización molecular, realizada mediante el análisis de

la secuencia 16S rDNA, reveló que las cepas RC02 y RG02 presentaron una identidad de 98 y 99% con los géneros *Rhizobium* sp. y *Burkholderia* sp., respectivamente. Los resultados indican que el presente estudio es pionero en reportar éste género como bacteria nodulífera, perteneciente a β -proteobacteria asociada a la especie *Leucaena leucocephala*. El presente estudio evidenció el rol de las bacterias *Rhizobium* sp. RC02 y *Burkholderia* sp. RG02 en la promoción de crecimiento vegetal infiriendo que pueden ser evaluadas como principios activos de futuros inoculantes

AT1_039 CRECIMIENTO Y FIJACIÓN DE NITROGENO EN SOJA INOCULADA CON BACTERIAS DESNITRIFICANTES EN PRESENCIA DE NITRATO

Thuar, Alicia María¹; Bruno, Carla Valeria¹; Castro, Stella Maris²

¹ Fac. de Agronomía y Veterinaria-Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² Fac. de Ciencias Exactas-Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina)
athuar@ayv.unrc.edu.ar

En el ciclo biogeoquímico del nitrógeno (N) existen dos procesos en que los microorganismos contribuyen a mantener la fertilidad del suelo, la fijación biológica del nitrógeno (FBN) y la desnitrificación. Algunas especies de rizobios, entre ellas *Bradyrhizobium japonicum*, son capaces de fijar nitrógeno y desnitrificar en simbiosis, siendo esto de gran interés ya que las cepas de rizobios caracterizadas por una elevada actividad nitrato reductasa son menos susceptibles a la inhibición por nitrato. El objetivo del presente trabajo fue estimar el efecto del nitrato sobre el crecimiento y la fijación de nitrógeno en plantas de soja inoculadas con cepas de *Bradyrhizobium japonicum* que presentan actividad desnitrificante. Para el ensayo de crecimiento y nodulación, las semillas de soja (Don Mario 4210 RR) pregerminadas se transfirieron a macetas con arena volcánica estéril y se sometieron a cuatro tratamientos: Control (sin inocular y fertilizar), Fertilizada (KNO_3 5 mM), Inoculada con la cepa desnitrificante *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 (1×10^8 ufc/ml), e Inoculada y Fertilizada. Las plantas se cosecharon en la etapa fenológica R2 (plena floración) y se realizaron las siguientes determinaciones: a) peso seco de raíz y de parte aérea, b) número y peso seco de nódulos, c) actividad nitrogenosa y d) contenido de nitrógeno por el método de Kjeldahl modificado. Los resultados obtenidos mostraron un aumento significativo de peso seco de la parte aérea de las plantas inoculadas y fertilizadas en relación a las plantas inoculadas, sin embargo, no se encontraron diferencias en los pesos secos de las raíces en ambos tratamientos (inoculado y/o fertilizado). Por otra parte, no se observó diferencia significativa en el número de nódulos pero sí en el peso seco de los nódulos de las plantas inoculadas en presencia de nitrato. La actividad nitrogenosa de los bacteroides presentó variaciones y el contenido de nitrógeno de la planta permaneció inalterado en los distintos tratamientos. Con el propósito de corroborar la importancia de la actividad desnitrificante de la cepa USDA110 se están llevando a cabo experimentos usando la cepa de *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110/CC41 (mutante defectiva en la enzima nitrato reductasa). En base a los resultados obtenidos podemos concluir que la capacidad fijadora de nitrógeno y desnitrificante de la cepa *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 contribuiría a mantener el metabolismo nitrogenado de la planta de soja en presencia de nitrato.

AT1_040 GENETIC AND PHENOTYPIC DIVERSITY OF ENSIFER SP. RECOVERED UNDER DROUGHT CONDITIONS

Rodrigues, Sandra¹; Ferreira, Eugénio¹; Videira e Castro, Isabel¹

¹ Laboratório de Microbiologia, UARN, INIA, Instituto Nacional dos Recursos Biológicos, I.P., 2770-004 Oeiras (Portugal)
isabel.castro@inrb.pt

The amount of water available to agriculture in the Mediterranean is declining because of increasing population pressure and greater incidence of drought. Perennial forage legumes are important pasture plants in dryland agricultural systems where the amount of water available is limited, since they can utilize water throughout the whole year. Some *Medicago* species are well adapted to areas in the Mediterranean basin and are excellent candidates for use in sustainable agricultural systems. This genus includes both perennial and annual species such as *M. sativa* L. and *M. polymorpha* L., respectively, being *Ensifer* sp. (*Sinorhizobium* sp.) able to develop nitrogen-fixing symbiosis with these legumes.

The goal of this study was to examine the symbiotic and genetic diversity of natural population of *Ensifer* sp. associated to different *Medicago sativa* cultivars and how this rhizobial natural population changed under different drought conditions. Also, phenotypic diversity for tolerance to different stresses like high temperature and salinity was evaluated.

About 100 rhizobia isolates were used in this study and were isolated from root nodules of 5 different cultivars (named ABT, Coussouls, Magali, Melissa and Mamuntanas) of young *Medicago sativa* plants growing in soil collected in the southern of Portugal, at 30 and 60% of the whole retention capacity, in controlled environmental conditions. In this sampling location, usually annual medics grow well and depended on natural

populations of rhizobia for nitrogen fixation.

Genetic diversity of rhizobial population was assessed by REP-PCR and ERIC-PCR and the results showed the existence of several clusters indicating a high genetic diversity among the natural population being cluster distribution affected by cultivar and by drought conditions. *RsaI* digestion of PCR amplified 16S rDNA (Laguerre et al., 1997; Zibri et al., 2004) of the 100 sampled isolates, assigned 73 isolates as *E. medicae* and the rest as *E. meliloti*.

For evaluation symbiotic effectiveness *Ensifer* strains were inoculated on their original hosts, i.e., *M. sativa* cultivars and also in *M. polymorpha* cv. 66. The results showed that strains, in a general way, were more effective with *M. polymorpha* than with *M. sativa*, although they had been isolated from this last host.

Further phenotyping of these strains for tolerance to the environmental stresses namely high temperatures (28 to 42 °C) and salinity (20 to 1000 mM of NaCl) revealed a large degree of variation, having different behaviors since very sensible to very tolerant. Strains isolated from Coussouls and Melissa cultivars were the most tolerant to high temperatures. Also, salinity tests showed that almost all the isolates that tolerate 1M were isolated from Melissa cultivar and were identified as *E. medicae*.

References

Laguerre et al. 1997. Applied Environmental Microbiology, 63: 4748-4758.
Zibri et al. 2004. Soil Biology and Biochemistry, 36: 903-908.

13:00 a 14:30

Almuerzo

14:30 a 15:20

XXV RELAR y I MIPCV

Área Temática 2: Producción y uso de inoculantes

Coordinador: *María Mayans*

Coordinador: *Federico Rivas*

Perspectivas para o Mercado de Inoculantes no Brasil.

Conferencista: *Rubens Buschmann Jr. (Brasil)*

Production and Evaluation of microbial inoculants in Spain

Conferencista: *Dulce Nombre Rodríguez Navarro (España)*

AT2_001 PERSPECTIVAS PARA O MERCADO DE INOCULANTES NO BRASIL.

Buschmann Jr., Rubens¹

¹ Novozymes BioAg Brasil (Brasil)
RCBJ@novozymes.com

O Brasil é o maior mercado de INOCULANTES do Mundo, com grande destaque para os produtos para soja, cuja área plantada é de 23.5 milhões/ha (2010) e representa um volume de inoculantes de mais de 15 milhões de doses/ano. Estima-se que a taxa de utilização de inoculantes no Brasil para a cultura da soja fique em torno de 67% a 68%, com baixo uso na região sul onde os solos são mais férteis e o clima mais regular em termos de umidade. O Feijão é a segunda maior cultura em demanda de inoculantes, mas por se tratar de uma cultura de baixa tecnologia, apenas em parte das áreas de plantio extensivo (3.5 milhões/ha) a prática da inoculação das sementes é utilizada, atingindo um volume de 220 mil doses/ano o que corresponde a uma taxa de utilização de menos de 8%. A comercialização de inoculantes para o Feijão Caupi (*Vigna unguiculata*) teve recentemente um aumento da demanda em função da recomendação de novas estirpes pela pesquisa e pelo incentivo do governo para o plantio desta cultura no norte e nordeste do país. Com relação às demais leguminosas, a lista de isolados recomendados é bastante extensa, mas por uma questão de difusão desta prática e por representar baixa rentabilidade para as empresas, a inoculação nestas culturas é uma técnica pouco utilizada. Hoje o consumo de inoculantes para leguminosas, exceto soja e feijão, atinge um volume próximo a 150 mil doses/ano. A legislação brasileira determina que sejam usados apenas isolados recomendados pela pesquisa, ou seja, estirpes com eficiência na FBN comprovada por testes realizados em rede e por instituições de pesquisa oficiais. Os isolados são depositados num único banco de estirpes de domínio público e as empresas devem adquirir e utilizar obrigatoriamente os isolados recomendados, podendo apenas variar a combinação dos mesmos. Nesta última década, pesquisas para prospecção de novos isolados e desenvolvimento de inoculantes para outras culturas tiveram um grande salto e recentemente novos produtos surgiram no mercado. Inoculantes para milho e trigo a base de isolados de *Azospirillum brasilense* já são uma realidade no Brasil com quatro produtos registrados até o momento. Em 2008 a Embrapa - Agrobiologia realizou através de um edital público o repasse de cinco isolados para o desenvolvimento de um inoculante para cana-de-açúcar. Os projetos de desenvolvimento já estão em fase de testes de campo e a expectativa é de que termos os produtos no mercado no final de 2012. Observa-se um forte aumento da demanda de produtos biológicos, tanto

no segmento da Biofertilidade como do Biocontrole no mercado brasileiro e mundial e novas tecnologias estão surgindo com o apoio da sociedade e dos governos. No Brasil o programa Agricultura de Baixo Carbono - ABCB tem como meta a redução das emissões de CO₂ e para isto o Ministério da Agricultura definiu dentro do programa cinco projetos prioritários como potenciais redutores das emissões. Dentre eles a Fixação Biológica de Nitrogênio.

AT2_002 PRODUCTION AND EVALUATION OF MICROBIAL INOCULANTS IN SPAIN

Rodríguez Navarro, Dulce Nombre¹; Temprano Vera, Francisco J.¹

¹ Centro Las Torres-Tomejil (IFAPA) (España)

dulcenombre.rodriguez@juntadeandalucia.es

The main challenge in plant nutrition is the application and widening of current knowledge through basic and applied research to identify appropriate nutrient management practices to ensure both enhanced and sustainable agricultural production. Environmental pollution resulting from greater nutrient availability can be either direct or indirect. Directly, misuse and excessive or poorly managed use of fertilizers can lead to leaching, volatilisation, acidification and denitrification. Indirectly, the production (use of fossil fuel in Haber-Bosch process) and transport (combustion of fossil fuel) of fertilizers result in airborne CO₂ and N pollution, which will be eventually deposited into terrestrial ecosystems. An essential element of agricultural sustainability is the effective management of N in the environment. This usually involves at least some use of nitrogen derived from a process called Biological Nitrogen Fixation. BNF is an activity, exclusively performed by a limited number of prokaryotic microorganisms, which are collectively called nitrogen fixers. Nitrogen fixers catalyse the reduction of atmospheric nitrogen (N₂) to ammonia (as NH₄⁺), that is available to a wide range of living beings: microbes and plants and, through further transformations, to animals. In agricultural settings, about 80% of the biologically fixed N₂ comes from symbioses involving leguminous plants and species of *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, and other related genera. The term biofertilizer, a contraction of *biological fertilizer*, has been recently coined and its exact definition is still unclear. It most commonly refers to those soil microorganisms that increase the availability and uptake of mineral nutrients for plants. Thus, the use of biofertilizers is one of the several ways to promote plant growth, which can also be achieved by treatments with chemical fertilizers. Rhizospheric bacteria showing the capacity to promote plant growth are collectively called PGPR (plant growth promoting rhizobacteria). Not all PGPR are biofertilizers, since many PGPR enhance the growth of plants by reducing the growth of pathogenic organisms and, consequently, they are frequently referred as biocontrol agents. Microorganisms other than bacteria, such as fungal species, can also act as biofertilizers or Biocontrol agents. The Conference will mostly address the practical aspects of the elaboration and use of biofertilizers in Spain.

15:20 a 16:00

XXV RELAR y I MIPCV

Presentaciones orales AT2

AT2_003 EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE FORMULADOS FUNGICIDAS A BASE DE CARBENDAZIM+ THIRAM SOBRE LA CEPA E 109 DE BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM

Pacente, Ezequiel¹; Carletti, Susana¹; Peticari, Alejandro²

¹ Dpto. Cs. Básicas-Universidad Nacional de Luján (Argentina); ² MIZA, CNIA-INTA Castellar (Argentina)

carletti@mail.unlu.edu.ar

Los lotes productivos de soja durante el período de germinación e implantación pueden ser infectados por hongos del suelo y otros transmitidos en semilla. El tratamiento de semillas es una práctica cultural para prevenir esos ataques. Los principios activos de algunos productos fungicidas de uso más frecuente están formulados con Carbendazim y Thiram. La inoculación de soja con cepas de *B. japonicum* es una práctica habitual a nivel productivo. El objetivo del estudio fue evaluar la compatibilidad de la cepa E109 de *B. japonicum* con el uso conjunto de formulados fungicidas-curasemillas disponibles en el mercado. Se utilizaron 13 formulados comerciales agrupados de acuerdo a las concentraciones de Carbendazim + Thiram: grupo 1 (10% + 10%), grupo 2 (12,50% + 12,50%), grupo 3 (15% + 35%) y grupo 4 (25% + 25%). Se elaboró un caldo patrón a base de *B. japonicum* E109 en medio líquido JAP con un título de 1,4 x 10⁹ ufc.mL⁻¹. Se constituyó un caldo con la dosis de inoculante (4 mL.kg semilla⁻¹) y la dosis de fungicida recomendable según cada formulado para tratar 6 kg de semilla. Esta mezcla fue utilizada para tratar las semillas. La semilla de soja fue CQ4,55 de AGD. Se evaluó la persistencia de la cepa en caldo y en semilla tomando muestras a 2, 24 y 72h de elaborado el caldo o de tratadas las semillas mediante determinación del número de rizobios viables por recuento de colonias en placas de petri con medio

ALM. Los tratamientos incluyeron un control con inoculante solo sin fungicida llevando a volumen con agua estéril. Se emplearon 3 repeticiones por tratamiento. Las semillas tratadas de 2, 24 y 72h fueron sembradas en vasos plásticos de 180 mL conteniendo vermiculita estéril y con pH regulado. Estas se colocaron en cámara de crecimiento con 16h luz, 25-30°C de temperatura y HR 60% durante 16 días. Se colocó en todos los casos un testigo sin inocular y un testigo inoculado sin fungicida. Se evaluaron parámetros de crecimiento y nodulación en raíz primaria. Se emplearon 4 repeticiones por tratamiento. El análisis de los datos mediante Infostat 1.1 muestra que el contacto de la mayoría de los formulados durante 2 h con la bacteria produce efectos nocivos significativos en la sobrevivencia tanto en caldo como en semilla y en el número y peso fresco de nódulos, particularmente con los productos del grupo 1, y a las 24 h todos los productos resultan nocivos. En conclusión los formulados con menor concentración resultaron ser los más agresivos con respecto a la simbiosis.

AT2_004 COMPETENCIA ENTRE *Azospirillum brasilense* Y BACTERIAS ENDÓFITAS NATIVAS DE SEMILLA DE ARROZ

Rariz Mollo, G¹; Ferrando, L²; Fernández Scavino, A²

¹ Facultad de Ciencias (Uruguay); ² Cátedra de Microbiología, Facultad de Química, UdelaR, Uruguay (Uruguay)

gastonariz@gmail.com

El arroz (*Oryza sativa*) es uno de los principales rubros de exportación para Uruguay. Es imprescindible encontrar nuevas herramientas que potencien el desempeño del cultivo y mejoren la utilización de nutrientes con un adecuado margen de seguridad alimentaria y ambiental.

Las bacterias endófitas son aquellas que se desarrollan en tejidos internos de la planta sin causar síntomas de daño en ella. Proviene del grano y del suelo, ingresando después de la germinación. Se ha postulado que las bacterias endófitas pueden tener un impacto importante en la productividad de cereales estimulando el crecimiento de la planta por mecanismos como la producción de hormonas, el antagonismo de patógenos o la fijación de nitrógeno atmosférico (N₂). El uso de inoculantes biológicos en lugar de fertilizantes químicos nitrogenados es una estrategia que disminuye el impacto ambiental causado por los agroquímicos. Las PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) como *Azospirillum brasilense* fijan el nitrógeno atmosférico incorporándolo a la biomasa de la planta y producen fitohormonas que estimulan el desarrollo del cultivo.

El objetivo de este trabajo es estudiar la competencia de *Azospirillum brasilense*, utilizado en inoculantes comerciales, frente a una bacteria endófitas aislada de semillas de arroz de la variedad INIA-Olimar. Esta bacteria, identificada como *Pseudomonas oryzae*, inhibió in vitro cultivos de *Azospirillum brasilense*. Para este trabajo se realizó un ensayo en cultivo hidropónico con cuatro tratamientos que variaron según el inóculo utilizado: *A. brasilense*, *P. oryzae*, *A. brasilense* mas *P. oryzae*, y un control no inoculado. Las semillas desinfectadas superficialmente se inocularon con 1x10⁹ células de cada cepa por ml. Al cabo de 10 días se cuantificaron las bacterias endófitas en la parte aérea y en raíces. Se evaluó el rendimiento mediante el peso seco de la planta.

Se realizaron recuentos en placa de heterótrofos (R2A) y de productores de sideróforos (R2A-CAS). Se determinó el número más probable de diazótrofos en medio RMR y se confirmó por el ensayo de reducción de acetileno. Se aislaron las cepas dominantes de cada tratamiento y se compararon los perfiles de restricción obtenidos por ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis). Se identificaron, por secuenciación del gen 16S rRNA, los principales representantes de los diferentes perfiles de restricción.

El rendimiento del cultivo no se afectó significativamente por la inoculación. En todos los tratamientos se recuperaron más de 1x10⁴ heterótrofos por gramo de parte aérea y más de 1x10⁶ heterótrofos por gramo de raíz, aún en el tratamiento sin inocular. En los tratamientos de inoculación con un solo microorganismo se recuperaron las cepas inoculadas. En cambio, cuando se co-inoculó *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas oryzae* sólo se recuperó ésta última. Por otra parte, en las plantas del tratamiento control no inoculado se aislaron bacterias de los géneros *Sphingomonas*, *Pantoea*, *Microbacterium*, *Methylobacterium* y bacterias de la especie *Pseudomonas oryzae*.

AT2_005 THE CONTRIBUTION OF *Pseudomonas chlororaphis* SUBSP. *aurantiaca* SR1 IN IMPROVING CROP PRODUCTIVITY. MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED IN HEALTHY

Rosas, Susana Beatriz¹; Pastor, Nicolas¹; Guinazu,

Lorena¹; Rovera, Marisa¹

¹ Fac Cs Exactas Fco Qcas y Nat Univ Nacional de Rio Cuarto (Argentina)

srosas@exa.unrc.edu.ar

The rhizospheric area supports large and active microbial populations capable of exerting beneficial, neutral, or detrimental effects on plant growth. The importance of rhizosphere microbial populations for maintenance of root health, nutrient uptake, and tolerance of environmental stress is now recognized. These beneficial microorganisms can be a significant component of management practices to achieve the attainable yield, which has been defined as crop yield limited only by the natural physical environment of the crop and its innate genetic potential

Pseudomonas aurantiaca SR1 is able to colonize different root-systems crops, maintaining an appropriate population in rhizospheric area and promotes an increment of the root and shoot weight in alfalfa, soybean, wheat, sunflower, maize among others.

P. aurantiaca SR1 colonized the root systems of the crops and it persisted at appropriate population densities. It also showed a significant plant growth-promoting effect that was reflected in the yield. Another relevant finding was that the crops, when inoculated with *P. aurantiaca* SR1, presented higher yields with fertilization doses lower than those conventionally applied. This indicated its potential use as a reasonable alternative for crop production, with a minimization of the ecological impact

It does not affect nodulation or Nitrogen Biological Fixation. It behaves as NPR (Nodulation promoting rhizobacteria) in alfalfa and soybean and was isolated as endophyte in wheat, soybean, sunflower and maize.

This strain mobilizes nutrients and produces indol acetic acid (IAA) these mechanisms could be contributing to the observed increase in growth parameters.

The increase in the quality of the microflora present in agricultural soils through the incorporation of organisms selected for their functions in diverse processes is an alternative that contributes to the sustainability of the agroecosystems.

Our results suggest that inoculation with *Pseudomonas aurantiaca* SR1 can potentially improve crop productivity, reducing the need for urea fertilizers and helping to mitigate the inorganic nitrogen pollution of surface and ground waters. The understanding of the mechanisms by which *P. Aurantiaca* SR1 promotes plant growth, together with taxonomic studies on *P. aurantiaca* reclassification as *P. chlororaphis*, will contribute to its formulation.

The strain produces such signals acyl homoserine lactones (AHL's).

P. chlororaphis subsp *aurantiaca* SR1 is an excellent biocontrol agent of fungal plant pathogens

PCR assays were carried out to detect *phlD* and *phz*, genes involved in the biosynthesis of 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) and phenazine-1-carboxylic acid (PCA), respectively. Also, PCR assays involving the specific primers to detect *prnD* and *pltC*, genes encoding the production of pyrrolnitrin (PRN) and (PLT), respectively, were performed as described by De Souza and Raaijmakers (2003). *Pseudomonas* sp. Phz24 (producer of PRN and PCA) and *P. fluorescens* CHA0 (producer of DAPG, PRN and PLT) were used as positive controls.

Additionally, the detection of *hcnAB* genes (involved in the biosynthesis of HCN synthetase) was performed by PCR using the primers PM2-F (5'-TGCGGCATGGGCGCATTGCTGCCTGG-3') and PM2-R (5'-CGCTCTTGATCTGCAATTGCAGGC-3') (Svercel *et al.*, 2007). The double strand sequencing was performed by custom service from MACROGEN.

16:00 a 16:30

Pausa

16:30 a 18:30

XXV RELAR y I MIPCV

Sesión de posters AT2

AT2_006 DESARROLLO DE UN INOCULANTE RIZOBIANO PARA UN NUEVO CULTIVAR DIPLOIDE DE *Lotus uliginosus*

Camargo, Danny¹; Batista, Leticia¹; Cuitiño, María José²; Rebuffo, Mónica²; Monza, Jorge¹

¹ Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Agronomía (Uruguay); ² INIA La Estanzuela (Uruguay)
danny.camargo24@gmail.com

'Grasslands Maku', el cultivar tetraploide de *Lotus uliginosus* Schkuhr, es usado en Uruguay para el mejoramiento de campo natural por su capacidad para producir forraje con alto aporte de proteína. Parte del nitrógeno de la proteína proviene de la fijación biológica, proceso realizado por bacterias del género *Bradyrhizobium* asociadas a las raíces de esta leguminosa. Para aumentar la expansión de esta especie, restringida por la disponibilidad de semilla, INIA ha desarrollado la línea diploide LE306 con alto potencial de semilla. En el entendido que la introducción de una leguminosa debe acompañarse de la evaluación del microsimbionte, en este trabajo se analizó la performance simbiótica y habilidad industrial de 14 aislados de *Bradyrhizobium* sp. nativos, seleccionados entre una colección de 75 aislados diferentes, y el inoculante comercial (U526) en el cultivar LE306. Los aislados LuL17, CNP22, Lulit19, Lup13, Lup30, CNL8 y U526 se destacaron por la producción de biomasa aérea obtenida en plantas crecidas en macetas y condiciones controladas. A estos aislados promisorios, se les evaluó la capacidad de nodular *in-vitro* a diferentes temperaturas, correspondientes al promedio en suelo en marzo, abril y mayo (22°, 18° y 15°C, respectivamente). A los 21 días, el mayor número de nódulos ocurrió en plantas crecidas a 22°C, seguido de 18°C, mientras que a 15°C sólo la cepa Lup30 indujo nódulos. Dadas las derivaciones económicas y ambientales no deseadas de la emisión de N₂O, se analizó la capacidad de producir este gas por estos aislados. Para esto se determinó en vida libre y en condiciones microaeróbicas la acumulación de N₂O en presencia y ausencia de acetileno, un inhibidor de la óxido nítrico reductasa, y sólo el aislado CNP22 acumuló N₂O. Para ser evaluados en la industria y en campo se seleccionaron LuL17, Lup30 y Lup13. Los ensayos de desarrollo industrial se hicieron en la empresa CALISTER y sólo Lup13 mostró una habilidad industrial adecuada para ser multiplicada como inoculante. Con Lup13 y U526 se prepararon inoculantes para las siembras en campo realizadas en INIA La Estanzuela (Colonia, Uruguay) en los meses de marzo, abril y mayo de 2011, para determinar la ocupación de nódulos mediante perfiles genómicos generados por BOX-PCR. Por otro lado se marcó U526 y Lup13 con el gen delator *gusA* para estudiar la competitividad de estas cepas respecto a las nativas presentes en suelos de 5 regiones de interés pecuario. Cada suelo se colocó en 9 cilindros que se sembraron con LE 306 y 'Grasslands Maku'. Las semillas se inocularon con U526::gusA y a los 50 días se determinó el número de nódulos ocupados con respecto al total. Esto permitió establecer que el porcentaje de ocupación promedio por el inoculante comercial se sitúa en 37% en las raíces primarias y 7% en las raíces secundarias.

AT2_007 EFECTO DE DOS DOSIS DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* CO-INOCULADO CON *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* EN PARCELAS DE SOJA EN CAMPO EXPERIMENTAL

Beguiristain, Germán¹; Puente, Mariana²; Carletti, Susana¹

¹ Dpto. Cs. Básicas-Universidad Nacional de Luján (Argentina); ² Lab. BPCVI, IMYZA, INTA Castelar - Alumna Doctorado en Ciencias Aplicadas UNLU (Argentina)
carletti@mail.unlu.edu.ar

La soja es el cultivo oleaginoso más importante y de mayor expansión en área sembrada en los últimos años en Argentina. La co-inoculación de *Bradyrhizobium japonicum* con *Azospirillum brasilense* en soja produce cambios en la fisiología de las raíces promoviendo la nodulación temprana y el comienzo de la fijación de nitrógeno evidenciando mejoras en la materia seca y nitrógeno asimilado. También se comprobó que la co-inoculación con *B. japonicum* E109 y *A. brasilense* Az39 modifica la capacidad de semillas de soja para germinar y el crecimiento aéreo y radical comparado con el control sin inocular. Se desarrolló un ensayo comparativo en campo experimental de la Universidad Nacional de Luján en cultivo de soja para evaluar dos dosis de *A. brasilense* en co-inoculación con *B. japonicum*. Se emplearon inoculantes líquidos formulados de *B. japonicum* cepa E109 y *A. brasilense* cepa Az39, provistos por el Laboratorio BPCVI, IMYZA, INTA Castelar. Los tratamientos fueron: 1) Control. 2) Inoculado con *B. japonicum* 2 mL/kg semilla. 3) Inoculado con *B. japonicum* 2 mL/kg semilla y *A. brasilense* 5 mL/kg semilla (9x10⁹ bacterias/semilla). 4) Inoculado con *B. japonicum* 2 mL/kg semilla y *A. brasilense* 10 mL/kg semilla (1,8x10⁹ bacterias/semilla). Se evaluó la densidad de cada parcela (emergencia de plántulas) con dos muestreos, a 7 y 14 días después de la siembra (dds.) para velocidad de emergencia

y eficiencia de la siembra. A 50 dds. se cuantificó longitud de parte aérea, número de nudos y peso fresco y seco de biomasa aérea y subterránea. En sistema radical se determinó número de nódulos en raíz principal y secundarias y sus pesos fresco y seco. En madurez fisiológica se evaluó rendimiento y peso de 1000 granos, analizando en grano el contenido de nitrógeno (N), proteína, extracto etéreo, materia orgánica y minerales. Los tratamientos inoculados aumentaron la velocidad y densidad de emergencia, siendo el co-inoculado con dosis simple el mejor con 10% más de plántulas emergidas a los 7 dds. y 2,2% en densidad final de emergencia (14 dds.). En la evaluación de peso fresco y seco de parte aérea y radical a 50 dds. el tratamiento inoculado con *B. japonicum* y doble dosis de *A. brasilense*, fue el de mejor performance, con incremento de 15% con respecto al testigo. Se obtuvo aumento entre 6% y 42% en la cantidad de nódulos en raíz principal y secundaria en tratamientos inoculados con referencia al testigo y aumento de rendimiento del 10% y 6%, del tratamiento co-inoculado con dosis simple y el inoculado con *Bradyrhizobium* respectivamente.

AT2_008 CARACTERIZACIÓN DE RIZOBIOS QUE NODULAN *Prosopis alba* EN EL CHACO ÁRIDO ARGENTINO

Chávez Díaz, Lucía¹; Lopez Lauenstein, Diego¹; González, Pablo¹; Lascano, Ramiro¹; Verga, Anibal¹; Melchiorre, Mariana¹

¹ Instituto de fitopatología y fisiología vegetal (Argentina)
luchavezdiaz@gmail.com

El algarrobo blanco (*Prosopis alba*) es una especie forestal nativa del Parque Chaqueño argentino apta para la producción de madera de alto valor, constituyente de sistemas productivos silvopastoriles y al mismo tiempo una herramienta adecuada para la recuperación ecosistémica de áreas degradadas en regiones áridas y semiáridas. En el contexto del desarrollo de materiales de propagación y de la tecnología, necesarios para su introducción al cultivo se inscribe este trabajo. Como parte del desarrollo tecnológico abordado se incorporó la selección de inóculos de rizobios de aplicación en vivero, que confieran a los plántines de algarrobo, destinados a plantación, una mayor tolerancia al estrés abiótico y un mayor crecimiento inicial para hacer más eficiente su instalación en áreas marginales y disminuir costos de plantación con destino comercial. Con este objetivo se tomaron muestras de suelos de algarrobal en cuatro sitios con ambientes contrastantes respecto del régimen hídrico y térmico, dentro del área de dispersión natural de *P. alba* y un sitio bajo condiciones de mayor aridez correspondiente a un algarrobal de una especie afín: *P. flexuosa*. Se aislaron cepas de rizobios a partir de nódulos de *P. alba* utilizada como planta trampa, producidos en sustratos esterilizados, inoculados cada uno, con muestras de tierra de los distintos sitios de muestreo. Se presentan los primeros resultados de la caracterización molecular por PCR de BOX sobre las cepas halladas en los distintos sitios. Estos resultados permitirán por una parte analizar la diversidad de microorganismos que nodulan *Prosopis* en ambientes contrastantes y posteriormente evaluar su comportamiento en condiciones estresantes para finalmente obtener un inóculo que contribuya a la instalación de plantaciones forestales en ambientes limitantes.

AT2_009 CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS CORTADORAS MEDIANTE EL USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Corallo, Belen¹; Mioneto, Ana¹; Ruiz, Rafael¹; Tiscornia, Susana¹; Martinez, Sebastian¹; Lupo, Sandra¹; Bettucci, Lina¹

¹ Facultad de Ciencias-Facultad de Ingeniería (Uruguay)
belcorall@hotmail.com

Los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* han sido eficientemente utilizados como agentes de control biológico de varios insectos, incluyendo las hormigas cortadoras. El objetivo de este estudio fue evaluar bajo condiciones de campo distintas formulaciones de *M. anisopliae* y *B. bassiana* para el control de dos especies de hormigas, *Acromyrmex lundii* y *Acromyrmex heyeri*. La producción de esporas se llevó a cabo mediante la inoculación de granos de arroz, previamente humedecido y autoclavado, con una suspensión de esporas (10⁶ esporas/ml) de cada uno de los hongos. El cultivo se mantuvo a temperatura ambiente 20-25°C y condiciones naturales de alternancia de luz oscuridad. Las esporas de *Metarhizium* se separaron del sustrato mediante un colector de esporas. Las esporas de *Beauveria* se separaron del arroz resuspendiéndolas en una solución de agua y tween al 0.05%. Para la aplicación de *Metarhizium* se utilizaron formulaciones diferentes: 1) cebo preparado con cáscara de naranja molida con un adherente comercial y esporas a dos concentraciones (1 x 10⁹ y 2 x 10⁹ esporas/g.), 2) esporas en una suspensión al 10% en harina de arroz, en polvo a una concentración de 1x10¹⁰ esporas/g. y 3) esporas en una suspensión en agua al 4,2 x 10⁷ esporas/ml. *Beauveria* se aplicó únicamente en una formulación líquida al 4,2 x 10⁷ esporas/ml de agua. En todos los casos se efectuaron tres aplicaciones. La aplicación del cebo se realizó directamente en los caminos de *A. heyeri* y *A. lundii*. Tanto las formulaciones en polvo como las líquidas se aplicaron directamente en los hormigueros de ambas especies. El cebo fue llevado por las

hormigas dentro del hormiguero pero la colonia permaneció activa en todos los casos. Dado que el cebo con mayor concentración de esporas era rechazado por las hormigas se supone que esta estrategia de aplicación debe ser revisada. Los hormigueros de *A. heyeri* tratados con formulación líquida presentaron una disminución paulatina de la actividad luego de las tres aplicaciones. Tanto *Metarhizium* como *Beauveria* tuvieron un efecto similar en controlar los hormigueros. En el caso de *A. lundii* se observó un control parcial de los hormigueros con la formulación en polvo de *Metarhizium*.

AT2_010 BIOTECNOLOGÍA APLICADA AL MEJORAMIENTO DEL ANGICO, UNA ESPECIE ARBÓREA NATIVA DE INTERÉS FORESTAL.

*Costa, Daniela*¹; *Zabaleta, María*¹; *Taulé, Cecilia*¹; *Mareque, Cintia*¹; *Platero, Raul*¹; *Sanjurjo, Lucía*²; *Sicardi, Margarita*³; *Froni, Lillian*²; *Battistoni, Federico*¹; *Fabiano, Elena*¹

¹ Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (Uruguay); ² Microbiología, Facultad de Agronomía, UdelaR (Uruguay); ³ Laboratorio de Microbiología del Suelo. Facultad de Ciencias-UdelaR (Uruguay)
dcostaduarte@hotmail.com

Entre las especies arbóreas que cumplen con una estrategia de desarrollo forestal sostenible, las leguminosas nativas surgen como una alternativa a la forestación tradicional. En particular, las leguminosas arbóreas capaces de asociarse a rizobios y llevar a cabo el proceso de Fijación Biológica de Nitrógeno son de gran interés. *Parapiptadenia rigida* (angico) es una leguminosa arbórea nativa de alto potencial para la forestación y reforestación, capaz de establecer asociaciones simbióticas efectivas con rizobios contribuyendo de esta forma al incremento del nivel de nitrógeno del suelo. Su madera es pesada, elástica, muy dura y durable y la leña es de excelente calidad. En estudios previos realizados por nuestro grupo se demostró que *P. rigida* establece asociaciones simbióticas efectivas tanto con alfa como con beta-rizobios pertenecientes a los géneros *Cupriavidus* y *Burkholderia*. El objetivo de este trabajo fue el de evaluar el efecto de la biofertilización de plantas de angico empleando inoculantes bacterianos basados en beta-rizobios. Para ello se realizaron estudios cuantitativos y cualitativos del crecimiento y sobrevivencia de plantas en tres ensayos de campo ubicados en los Departamentos de Rivera, Treinta y Tres y Montevideo, respectivamente. La selección de las cepas a ensayar se realizó tomando en cuenta resultados previos de evaluación de su capacidad de mejorar el crecimiento de plantas crecidas en solarío y en invernáculo. Los tratamientos examinados en las plantaciones fueron: inoculación con la cepa *Burkholderia* sp. 4.13, con *Cupriavidus* sp. 5V12, con una mezcla de ambas cepas o con una mezcla de las cepas y con el agregado de micorrizas. En el caso del ensayo de Montevideo no se realizó el tratamiento con micorrizas aplicándose en su lugar la cepa *Cupriavidus* sp. 5.5. Se encontraron diferencias significativas en las medidas de diámetro basal de las plantas biofertilizadas con la mezcla de cepas bacterianas pertenecientes a los géneros *Burkholderia* y *Cupriavidus* en comparación a las plantas testigo en la plantación ubicada en el Departamento de Rivera, mientras que en las plantaciones de Treinta y Tres y Montevideo no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los estudios en campo fueron complementados con ensayos en el laboratorio a fin de caracterizar la simbiosis establecida entre las leguminosas y los β -rizobios. Con esa finalidad las cepas *Burkholderia* sp. 4.13, *Burkholderia* sp. 9.4, *Cupriavidus* sp. 5.5 y *Cupriavidus* sp. 5V12 se marcaron con un plásmido que expresa la proteína verde fluorescente GFP. Las cepas marcadas se emplearon para inocular plantas de angico y de *Mimosa pudica* y los nódulos producidos serán analizados por microscopía de fluorescencia. Agradecimientos: ANII, PEDECIBA

AT2_011 EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE PLANTAS DE *Solanum tuberosum* CON UN CONSORCIO DE BACTERIAS DIAZOTRÓFICAS NATIVAS

*Dominguez, María Soledad*¹; *Magnoni, M.J.*²; *Magnoni, J.M.*²; *Juarez, J.A.*²; *López, A.O.*²; *Folabella, A.M.*³; *Hernández, W.A.*²

¹ Universidad Nacional de Mar del Plata - FCEyN - Laboratorio de Microbiología / CAISE S.A. (Argentina); ² CAISE S.A. (Argentina); ³ Universidad Nacional de Mar del Plata - FCEyN - Laboratorio de Microbiología (Argentina)
soledaddominguez7@gmail.com

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto promotor del crecimiento vegetal de un consorcio de bacterias diazotróficas nativas sobre plantas de *Solanum tuberosum*, con la finalidad de introducirlo como biofertilizante y determinar su respuesta en la productividad del cultivo.

A partir de muestras de suelo se realizaron aislamientos de bacterias diazotróficas en un medio específico. Las cepas se cocultivaron en medio líquido y se emplearon como inoculante en plántulas de la variedad Spunta *In Vitro*.

El efecto principal observado sobre estas plántulas fue el aumento en grosor y longitud de las raíces. Por tal motivo se decidió proseguir las investigaciones sobre el efecto

del consorcio bacteriano.

Se analizó el efecto sobre plántulas en bandejas de propagación autotrófica, empleando el inóculo mezclado con la solución nutritiva de riego. Se contrastó el tratamiento con otros dos grupos de plántulas: un control sin inocular y otro grupo a las que se aplicó un enraizador comercial.

El desarrollo radicular fue similar entre las plántulas tratadas con consorcio y las tratadas con enraizador y notablemente superior respecto a las plántulas control.

En las plántulas tratadas con el consorcio se observó, además, una marcada rusticación, aumento en el número de hojas, en el área foliar y en el grosor caulinar. Los tallos presentaron coloración parduzca típica de plantas rusticadas de esta variedad.

En vista de estos resultados, se decidió el trasplante a invernáculo de las plántulas control y de las crecidas en presencia del consorcio, agregando un tercer grupo de prueba constituido por plántulas control que se inocularon con el consorcio bacteriano mediante riego luego del trasplante a los canteros. En cada grupo, la mitad de las plántulas se sembraron en presencia de un preparado comercial de hongos micorrícicos.

En los dos casos se mantuvo constante el número de plantas sembradas por m². A los 90 días de cultivo se extrajeron muestras de peciolo para determinar contenido de fósforo y nitrógeno en las plantas.

Luego de 107 días de cultivo, se levantó la cosecha. Las papas obtenidas en cada tratamiento y en los controles, se clasificaron por tamaño, se contaron y se pesaron. Como resultado se observó un incremento en la productividad de las plantas provenientes de plántulas criadas en presencia del consorcio, con rindes hasta un 15,43% mayor en el número de papas. Los tratamientos con hongos micorrícicos y consorcio bacteriano mostraron rindes hasta un 42,21% mayor.

AT2_012 PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Lotus tenuis* EN SUELOS DE LA PAMPA DEPRIMIDA DEL SALADO BAJO CONDICIONES DE FERTILIZACIÓN FOSFORADA E INOCULACIÓN CON LA CEPA SOLUBILIZADORA DE FOSFATO *Pantoea eucalypti* M91

*Castagno, NL*¹; *García, IV*²; *Bailleres, MA*³; *Rocco, RA*¹; *Sannazzaro, AI*¹; *Estrella, MJ*⁴; *Ruiz, OA*¹; *Mendoza, RE*¹

¹ IIB-INTECH (Argentina); ² MACN-CONICET (Argentina); ³ CEI Chascomús (MAA-INTA) (Argentina); ⁴ IIB-INTECH Investigador adjunto CIC (Argentina)
estrella@intech.gov.ar

En la Cuenca del Salado (Buenos Aires, Argentina), *Lotus tenuis* (= *L. glaber* Mill.), una leguminosa naturalizada de excelente valor forrajero surge como una alternativa concreta para mejorar la calidad del pastizal (Cahuépe, 2004; Kirkbride, 1990). Los suelos se caracterizan por presentar una severa deficiencia de P, alcalinidad, salinidad, junto con alternancias de anegamiento y sequía (García y Mendoza, 2008). La deficiencia de P puede tener un efecto perjudicial sobre la interacción simbiótica entre rizobios y leguminosas como *L. tenuis*, afectando su crecimiento y productividad (Gyaneshwar et al., 2002). En este contexto, el desarrollo de tecnologías de fertilización como la utilización de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) capaces de solubilizar P a partir de formas insolubles nativas del suelo o agregadas por fertilización, son un recurso sustentable desde el punto de vista económico y ecológico que pueden mejorar la producción de *L. tenuis* en la región.

Estudios previos realizados con BSF aisladas de la rizosfera de *L. tenuis* determinaron que en condiciones controladas, la inoculación de esta leguminosa con aislamientos de los géneros *Pantoea* y *Pseudomonas* tiene un efecto positivo sobre el desarrollo de las plantas respecto de aquellas sin inocular (Castagno et al., 2011).

Teniendo en cuenta estos resultados, el presente trabajo tiene como objetivo poner a prueba la hipótesis de que la inoculación de *L. tenuis* con la cepa *P. eucalypti* M91 en condiciones de campo, aumenta la disponibilidad de P en el suelo y mejora la producción de esta leguminosa.

El ensayo se realizó a fines de invierno del 2010 en un suelo de media loma típico de la Cuenca del Salado (pH: 6.0, CE: 0.73 dS/m, C: 2.2%, N: 0.22%, P Bray 1: 12.0 ppm P) con plantas de *L. tenuis* cv Esmeralda (Gentos). Se comparó el crecimiento de esta leguminosa bajo distintas condiciones de fertilización fosforada, con y sin inoculación con BSF. Las distintas condiciones de fertilización fueron: sin P, con Roca fosfática (RF), con Superfostato Triple (SFT), en dosis equivalentes a 20 kgP/ha, que son inferiores al P requerido para alcanzar un máximo rendimiento en *L. tenuis* (Mendoza et al., 2009). A comienzos de verano del 2011 se cosechó parte aérea, raíces y se obtuvieron muestras de suelo de cada tratamiento. Tanto los tratamientos fertilizados como los no fertilizados en su conjunto mostraron una mayor producción ($P < 0.05$) de *L. tenuis* cuando éste fue inoculado con BSF respecto de aquellos sin inocular. El % N y % P en parte aérea fue mayor ($P < 0.05$) en las plantas inoculadas, y la eficiencia de aplicación de RF con respecto al SFT fue de 0.40 y 0.61 para los tratamientos sin inocular e inoculado respectivamente.

AT2_013 ESTUDIOS DE MOVILIZACIÓN DEL PLÁSMIDO CRÍPTICO PLPU88B DE *Sinorhizobium meliloti* EN EL AMBIENTE SUELO, EN CONDICIONES DE CAMPO Y EN MICROCOSMOS.

Giusti, María de los Angeles¹; Lozano, Mauricio¹; Torres Tejerizo, Gonzalo¹; Martini, María Carla¹; Salas, María Eugenia¹; Pistorio, Mariano¹; Del Papa, María Florencia¹; Echegaray, Roberto²; Moretti, Enrique²; Lagares, Antonio¹
¹ IBBM- CCT-La Plata-CONICET, Departamento de Cs. Biológicas, Fac. Cs. Exactas, UNLP, calles 47 y 115, 1900-La Plata, Argentina (Argentina); ² BIAGRO S.A., Las Heras, Argentina (Argentina) giusti@biol.unlp.edu.ar

Mediante el uso de inoculantes de rizobios se introducen a los suelos de cultivo bacterias seleccionadas en base a sus capacidades destacadas de competencia para la nodulación y fijación de nitrógeno. En ese marco, sin embargo, poco se ha investigado respecto del impacto de la inoculación en lo que hace a la dispersión de genes desde la cepa introducida a la comunidad de rizobios y a otras bacterias presentes en el suelo. Teniendo en cuenta que muchos rizobios son portadores de plásmidos y/o de islas simbióticas transmisibles, es importante conocer la frecuencia con que tienen lugar eventos de transferencia horizontal de genes desde rizobios inoculados en semillas hacia rizobios autóctonos del suelo con el objetivo de estimar el impacto de las cepas introducidas sobre el germoplasma de los rizobios (y de otras bacterias) presentes en el suelo inoculado.

En este trabajo exploramos eventos de transferencia plasmídica a partir de la liberación de la cepa de *Sinorhizobium meliloti* LPU88All (Sm^r, Sp^r, Gm^r, todas resistencias espontáneas) portadora de un plásmido movilizable (pLPU88b). La misma fue inoculada sobre semillas de alfalfa siguiendo las prácticas regulares utilizadas a campo. Mediante un ensayo de PCR investigamos la presencia del plásmido pLPU88b en los rizobios autóctonos que nodularon dichas plantas, y en aquellos que nodularon plantas "trampa" sembradas a largo del primer año y medio post-siembra. En esas condiciones de ensayo y luego del análisis de más de 1400 nódulos, la inoculación de la cepa de *S. meliloti* no resultó en la recuperación de rizobios transconjugantes noduladores de alfalfa portadores del plásmido pLPU88b.

La transferencia del plásmido pLPU88b, fue también evaluada en un ensayo de microcosmos en el que además de una cepa inoculante dadora, esta vez *S. meliloti* LPU88Tn (pSmeLPU88b::Tn5, Nm^r), se introdujo como receptora la cepa *Agrobacterium tumefaciens* UBA PF2, Rif^r. La búsqueda de transconjugantes que pudieron formarse en la masa del suelo y en la rizósfera durante el ensayo de microcosmos fue realizada a lo largo de 35 días luego de la inoculación, encontrándose valores de transferencia menores a $8,7 \times 10^{-5}$ e iguales a $6,8 \times 10^{-7}$ transconjugantes/célula dadora en la masa suelo y en la muestra rizosférica respectivamente. Teniendo en cuenta que el número de rizobios en suelos naturales de cultivo oscila generalmente entre 10^6 - 10^9 /g de suelo (mucho menor que el número presente en nuestros ensayos de microcosmos), puede inferirse que la transferencia conjugativa en suelo de plásmidos como el estudiado en este trabajo, es un evento de baja frecuencia y significativo sólo en el contexto de la evolución genética de la población a largo plazo.

AT2_014 INOCULACIÓN ANTICIPADA DE SOJA: METODOLOGÍAS PARA EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL TIEMPO ENTRE INOCULACIÓN Y SIEMBRA SOBRE LA SOBREVIVENCIA DE RIZOBIOS Y LA NODULACIÓN

Beyhaut, Elena¹; Mayans, María²; Lage, Martín³
¹ INIA-Microbiología de suelos (Uruguay); ² MGAP-RENAER (Uruguay); ³ Lage & Cia. (Uruguay) mmayans@mgap.gub.uy

El área bajo cultivo de soja (*Glycine max* L. Merr) en Uruguay ha crecido drásticamente en los últimos cinco años, habiendo superado las 800.000 Ha en 2010 y transformándose en el cultivo de grano con mayor área sembrada. La sustentabilidad económica y ambiental de la producción de soja tiene como pieza clave el correcto uso de inoculantes de alta calidad en base a cepas de rizobios seleccionados. El objetivo de la inoculación es proveer el máximo número de rizobios adecuados en la rizósfera en el momento en que se inicia la nodulación. En general, cuando el número de rizobios viables inoculados por semilla aumenta, también lo hacen la nodulación, la fijación de nitrógeno y el rendimiento. A su vez, la muerte de los rizobios subsiguiente a la inoculación ocurre rápidamente debido a diversos factores: desecación, toxicidad de curasemillas, contacto con fertilizantes ácidos, exposición a ambientes edáficos desfavorables y toxicidad de la cubierta de la semilla. El objetivo del presente trabajo fue estimar el tiempo máximo aceptable entre la inoculación y la siembra, sin que se observe detrimento de la nodulación. Los tratamientos consistieron en la combinación de tipo de inoculante (turba/líquido), curasemilla (fungicida/insecticida/sin curar), y bioprotector (con/sin). Se evaluó la sobrevivencia de rizobios sobre la semilla a tiempo 0 (seguidamente a la inoculación), 4, 48 horas, 7, 15 y 30 días post-inoculación por la técnica de recuento de viables en placa. En base a los resultados, se seleccionaron tratamientos que incluían inoculante líquido (LBI, LBF, LB y L) para ser evaluados en

condiciones controladas por su capacidad de nodular con tiempos de espera de 7 y 15 días entre inoculación y siembra. Los resultados muestran cargas iniciales (T0) mayores a 600000 rizobios por semilla. La mayor pérdida de rizobios se produjo en las 48 hs posteriores a la inoculación. En ese lapso se produjeron caídas desde un 62% en el tratamiento que se comportó mejor, a un 84% en el tratamiento que mostró la sobrevivencia mas baja. Se observó un efecto favorable del bioprotector, prolongando la sobrevivencia de los rizobios. Contrariamente, el uso de curasemillas tuvo un efecto deletéreo sobre los rizobios. A los 30 días post inoculación la sobrevivencia de rizobios en todos los tratamientos fue menor a un 2% de la carga inicial. Cuando se evaluó la capacidad de nodulación en condiciones controladas en inoculaciones con 7 y 15 días de anticipación a la siembra, se observaron diferencias significativas en el peso seco de los nódulos para factor "tiempo de anticipación" ($p < 0.01$). Estos resultados subrayan la necesidad de que tecnologías como la preinoculación o la inoculación anticipada de semillas sean evaluadas con métodos estandarizados como los presentados en este trabajo.

AT2_015 EFECTO DE LA COINOCULACIÓN DE CEPAS DE RIZOBIOS Y UNA CEPA EFICIENTE DE HONGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR EN KUDZÚ (PUERARIA PHASEOLOIDES)

González Cañizares, Pedro J.¹; Medina Basso, Nicolás¹; Pérez Hernández, Guianeya²; Ramírez, Juan F.²; Arzola, Joan³

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) (Cuba); ² Instituto de Investigaciones de Pastos y Forrajes (IIPF) (Cuba); ³ Microestación de Pastos y Forrajes Niña Bonita (Cuba) medinabasso@gmail.com

El manejo efectivo de los microorganismos rizosféricos puede constituir una alternativa ecológica y económicamente viable para incrementar la productividad, persistencia y valor nutritivo de las leguminosas forrajeras y a la vez, reducir el uso de fertilizantes químicos. Basado en esta premisa se realizó un experimento con el objetivo de evaluar el efecto de la coinoculación de cepas de rizobio y una cepa de hongo micorrízico arbuscular (HMA) eficiente, en el crecimiento, estado nutricional y el rendimiento del kudzú (*Pueraria phaseoloides*). El experimento se condujo en la Microestación de Pastos y Forrajes de la Empresa Pecuaria Genética Niña Bonita, en la provincia de Artemisa, Cuba, sobre un suelo Nitisol Ródico Eutrico de baja fertilidad natural. En él se incluyeron ocho tratamientos (la inoculación de las cepas de rizobios K1 y K2, la aplicación de 50 kg de N ha⁻¹ y un testigo sin rizobio ni fertilizante nitrogenado, solos y combinados con la inoculación de la cepa de HMA *Glomus hoi-like*), que se distribuyeron en un diseño experimental de bloques al azar con cuatro réplicas. Las cepas de rizobios fueron aisladas de plantas de kudzú sin inocular, las cuales crecieron en condiciones similares a las del sitio donde se realizó este experimento, y posteriormente purificadas y caracterizadas. La cepa de HMA *G. hoi-like* se seleccionó por su alta eficiencia, de acuerdo con los resultados de estudios de cepas de HMA-especies de pastos realizados previamente en condiciones edáficas semejantes. Los biopreparados se aplicaron por el método del recubrimiento de la semilla al momento de la siembra. Se presentan los resultados del primer corte. En ausencia de la inoculación micorrízica, la cepa de rizobio K2 produjo una nodulación más efectiva (96 %), así como contenidos de N en la biomasa (2.53 %) y rendimientos de masa seca (2.73 t MS ha⁻¹) significativamente mayores que la cepa K1; estas últimas variables mostraron valores similares a los alcanzados con la aplicación de 50 kg de N ha⁻¹. Sin embargo, la coinoculación de *G. hoi-like* con cualesquiera de las cepas de rizobio incrementó significativamente la nodulación (46 nódulos planta⁻¹), en relación con las cepas de rizobio solas (26 nódulos planta⁻¹), y produjo rendimientos (3.37 t de MS ha⁻¹) y contenidos de N y P en la biomasa (3.35 % de N y 0.23 % de P) significativamente mayores que los alcanzados con las cepas de rizobium solas o con la fertilización nitrogenada. Las estructuras fúngicas del kudzú también se vieron favorecidas por la coinoculación de ambos microorganismos. Se comprobó, en las condiciones en que se condujo este experimento, el efecto sinérgico de las bacterias nitrificadoras y los hongos micorrízicos arbusculares, así como las ventajas de la coinoculación de ambos microorganismos para mejorar el rendimiento y el valor nutritivo del kudzú.

AT2_016 RESPUESTA DE *Canavalia ensiformis* A LA INOCULACIÓN CON TRES CEPAS DE HMA

Martín Alonso, Gloria M.¹; Rivera Espinosa, Ramón¹; Medina Basso, Nicolás¹; Arias García, Lianne¹

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) (Cuba) medinabasso@gmail.com

Algunas especies micótrofas de abonos verdes pueden aumentar el contenido potencial de inóculos micorrízicos en el suelo, ya que mejoran la absorción de P y los rendimientos del cultivo posterior, en comparación con los sistemas en barbecho. Con ese fin se realizó este experimento en macetas de 5 kg de capacidad, conteniendo suelo Ferráltico Rojo lixiviado, en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, a 138 m sobre el nivel del mar,

durante el período de septiembre-noviembre, 2007. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con seis réplicas. Los tratamientos consistieron en sembrar dos semillas de *Canavalia ensiformis* por maceta y añadir en cada una 10 g de inóculo certificado (25 esporas de HMA.g de inóculo⁻¹) empleando cepas de las especies *Glomus mosseae*, *Glomus claroideum* y *Glomus hoi*-like. Como testigo se utilizaron plantas sin inoculación de HMA y suelo sin esterilizar. Se hicieron determinaciones de masa seca, análisis foliar y conteo de esporas de HMA, obteniéndose los mejores resultados con la cepa *Glomus hoi*-like. Los resultados arrojaron una marcada diferencia en la absorción de NPK en las plantas inoculadas con diferentes cepas respecto al testigo sin inoculación. Se observa un efecto de multiplicación de las esporas de HMA en el suelo, después del corte de las plantas de canavalia inoculadas con diferentes cepas. La respuesta positiva a la inoculación con HMA depende de dos factores: la especie inoculada y la riqueza en nutrientes del sustrato.

AT2_017 RESPUESTA A LA COINOCULACIÓN DE *B. japonicum* Y *A. brasilense* EN EL CULTIVO DE SOJA

Monteleone, María Emilia¹; Ruiz, Dante¹; Macaroni, Lucas¹; Manescotto, Martín¹

¹ Nitrasoil Argentina S.A. (Argentina)
emonteleone@nitrasoil.com.ar

La inoculación conjunta -coinoculación- de *Rhizobium* y *Azospirillum*, como también de otras PGPR han mostrado incrementar significativamente la nodulación, la fijación de N₂, la acumulación de macro y microelementos y la biomasa vegetal, comparado con la inoculación de *Rhizobium* solo (Burdman et al. 1998; Rodelas et al. 1996; 1999; Dardanelli et al. 2008). El objetivo del presente ensayo fue evaluar la respuesta a la inoculación y coinoculación con *Azospirillum*, con el agregado de bioprotector. El ensayo se implantó en la localidad de 9 de Julio, Provincia de Buenos Aires, Argentina, el día 14 de diciembre de 2010. El cultivo antecesor era maíz y la variedad sembrada, NA 4613, en hileras espaciadas a 35 cm. La inoculación se realizó al momento de la siembra y los tratamientos evaluados fueron los siguientes: Testigo sin inocular/inoculado *B. japonicum*/inoculado *B. japonicum* + Bioprotector/inoculado *B. japonicum* + *A. brasilense*/inoculado *B. japonicum* + *A. brasilense* + Bioprotector/inoculantes empleados: Nitrasoil-L (*B. japonicum*) x 2,4 lt con turba en suspensión, concentración 5,5 x 10⁹ ufc/ml. Bio-enhance (*A. brasilense*) x 1,5 lt, concentración 1,1 x 10⁹ ufc/ml. Dosis empleadas (para 50 Kg de semillas): Nitrasoil-L 150 ml, Bio-enhance 75 ml y Bioprotector Nitrasoil-L 50 ml. Se evaluó nodulación en estado R₃ y rendimiento de grano al finalizar el ciclo del cultivo. A los resultados se les realizó análisis de varianza (ANOVA). Resultados La campaña agrícola 2010/11 se caracterizó por una importante limitante hídrica en las primeras etapas del cultivo, estas condiciones pueden haber influido en el rendimiento general del ensayo. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de nódulos en raíz principal, en todos los tratamientos inoculados y coinoculados, respecto al testigo sin inocular. El rendimiento (Kg de grano/Há) del testigo sin inocular fue de 3676 Kg/Há, la inoculación con *B. japonicum* con y sin bioprotector arrojó valores de rendimiento de 4364 y 3987 Kg/Há, respectivamente y en el caso de la coinoculación con *Azospirillum* con y sin bioprotector los datos obtenidos fueron 4434 y 4120 Kg/Há, respectivamente. Todos los tratamientos inoculados, en valores absolutos, rindieron más que el testigo sin inocular, aunque las diferencias no fueron significativas estadísticamente, en promedio este incremento fue de 585 Kg/Há. La coinoculación con *Azospirillum* permitió incrementar el rendimiento respecto al testigo sin inocular en 758 Kg/Há y en 101,5 Kg/Há, en promedio, respecto al mismo tratamiento sin el agregado de *Azospirillum*. Por último, comparando tratamientos inoculados y coinoculados, con el agregado de bioprotector y sin él, se observó un incremento del rendimiento, en promedio de 345 Kg/Há, por la utilización de este aditivo. Esto muestra la importancia que tiene el uso de protectores bacterianos, principalmente en condiciones de estrés hídrico como las que se dieron durante las etapas tempranas del cultivo.

AT2_018 PRÉ-INOCULACIÓN, SUBDOSAGENS E TRATAMIENTO DE SEMENTES: RISCOS À EFICIÊNCIA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM SOJA?

Nogueira, Marco¹; Ferreira, Eduara¹; Fukami, Josiane¹; Conceição, Rinaldo¹; Hungria, Mariangela¹

¹ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Brasil)
nogueira@cnpso.embrapa.br

A inoculação com estirpes eficientes de *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii* permite o suprimento das demandas de nitrogênio pela cultura da soja via fixação biológica, o que no Brasil representa uma economia estimada em US\$ 6 bilhões. Para que o processo seja eficiente, é fundamental que um número mínimo de células viáveis de *Bradyrhizobium* esteja presente para o estabelecimento da simbiose, o que tem sido apontado como ideal pela pesquisa como sendo pelo menos 1,2 milhões de células viáveis por semente. No Brasil, a legislação determina que os inoculantes devam conter no mínimo 1 x 10⁹ unidades formadoras de colônia (UFC) por grama ou mililitro de inoculante, além da ausência de contaminantes. Entretanto, vários

agricultores e empresas vêm adotando novos procedimentos de inoculação visando a facilitar a logística de semeadura e diminuir custos, como o uso de pré-inoculação de sementes, diluição de doses de inoculantes, e uso simultâneo de produtos químicos como inseticidas, fungicidas e micronutrientes para o tratamento de sementes. Vários resultados de pesquisas realizadas na Embrapa Soja evidenciaram a drástica diminuição no número de células viáveis nas sementes em decorrência de diluição e subdosagens de inoculantes, mesmo produtos comerciais com concentração de células viáveis superior a 1 x 10¹⁰ UFC mL⁻¹. Constatou-se ainda que a pré-inoculação causa baixa sobrevivência de *Bradyrhizobium* nas sementes armazenadas por períodos superiores a 10 dias, mesmo na presença de aditivos protetores de bactérias. A diminuição é ainda mais intensa quando as sementes também são tratadas com fungicidas, inseticidas ou micronutrientes, mesmo com o uso de aditivos protetores. O emprego de tais procedimentos sem critérios técnico-científicos pode comprometer os avanços já alcançados quanto à fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja. Esse comprometimento pode ser ainda maior com o lançamento de novas cultivares cada vez mais produtivas, que por sua vez demandam mais nitrogênio para expressar seu potencial de produção.

AT2_019 PRODUTIVIDADE E QUALIDADE TECNOLÓGICA DA CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

Reis, Veronica M.¹; Pereira, Willian²; Schultz, Nivaldo²; Urquiaga, Segundo¹

¹ Embrapa Agrobiologia (Brasil); ² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Brasil)
veronica@cnpab.embrapa.br

A descoberta de alternativas para a nutrição nitrogenada e promoção de crescimento em plantas de cana-de-açúcar é um assunto de interesse na redução de emissão de gases de efeito estufa e no aumento do balanço energético na produção do etanol de cana. Alternativas vindas da própria natureza são potenciais para ganhos de produtividade de forma sustentável. Uma dessas alternativas é a aplicação de bactérias capazes de promover o crescimento vegetal através de mecanismos como a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a produção de fitormônios. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade e qualidade tecnológica de variedades de cana de açúcar inoculadas com uma mistura de bactérias diazotróficas selecionadas em diferentes variedades de cana-de-açúcar no ciclo da cana-planta e da cana-soca sendo neste segundo caso associada com doses crescentes de nitrogênio. Dois experimentos foram instalados em duas usinas de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. O ensaio em cana-planta foi instalado em abril de 2008 e o ensaio em soqueira foi avaliado por dois anstendo início em novembro de 2008. No experimento de cana-planta foram utilizadas sete variedades de cana-de-açúcar: RB72454, RB867515, RB855453, RB92579, RB935744, SP81-3250 e CTC-15, inoculadas e não inoculadas. As parcelas foram constituídas de seis sulcos de 10 m, com espaçamento de 1,40 m, total de 84 m² por parcela. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições. Em cana-soca foi utilizada a variedade SP80-3280. Foram utilizadas doses do inoculante (10⁹ e 10⁶ cel mL⁻¹) associadas a doses de nitrogênio (50, 100 e 150 kg ha⁻¹ de N). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas com cinco repetições. A aplicação do inoculante foi realizada mecanicamente com um conjunto trator e pulverizador. Foram avaliados, além dos parâmetros agrônômicos, parâmetros agroindustriais e econômicos. No experimento de cana-planta a inoculação promoveu significativo aumento de produtividade de colmos na variedade RB72454. Não foram observadas respostas nas demais variedades estudadas em produtividade, mas respostas significativas foram observadas quanto aos atributos tecnológicos. A inoculação promoveu aumento significativo no ATR nas variedades RB72454, RB855453, RB92579 e SP81-3250. No experimento em soqueira foram observados incrementos na produtividade de colmos, acúmulo de N e houve resposta significativa em alguns atributos tecnológicos na variedade SP80-3280. A inoculação promoveu aumento na produtividade e a aplicação mecânica mostrou ser eficiente e rentável para o produtor. Os resultados demonstram a viabilidade da tecnologia para a cana-de-açúcar com ganhos em produtividade e principalmente ganhos ambientais.

AT2_020 RESPUESTA DE ESPECIES HORTÍCOLAS A LA INOCULACIÓN CON *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

Carletti, Susana¹; Vita, Federico¹; Garbi, Mariana²; Mezquiriz, Néstor³; Rodríguez Cáceres, Enrique⁴

¹ Dpto. Cs. Básicas-Universidad Nacional de Luján (Argentina); ² Dpto. Tecnología-Universidad Nacional de Luján (Argentina); ³ Estación Experimental Gorina- MAA (Argentina); ⁴ Biotecnología PLANTEC (Argentina)
erodriguezcaceres@gmail.com

En el marco del Proyecto "Desarrollo y evaluación de biofertilizantes para cultivo de hortalizas a base de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR)", desarrollado en la Universidad Nacional de Luján (Buenos Aires, Argentina), se está trabajando en la evaluación de cepas de *Azospirillum brasilense*, habiéndose inoculado lechuga y

tomate con 13 cepas diferentes. Se observaron resultados promisorios empleando las cepas PL3, Az39, Sp7, PL49, PL50, PL64, UNLu7 y Cd, entre otras. Asimismo se estudian los efectos que produce en lechuga, tomate, maíz dulce y pimiento la aplicación de un inoculante experimental de *A. brasilense* mezcla de cepas Az39, PL3 y PL64 (M3) y otro con mezcla de Az39, PL3, PL64, UNLu7 y Cd (M5). Como resultado, en tomate se observó que la inoculación a la siembra con M3 y/o M5, aplicando 1×10^7 ufc.planta⁻¹, influyó significativamente en la longitud de raíz; mientras que la inoculación 15 días post-transplante produjo aumentos del 7 al 21 % en el peso de fruto, incrementos significativos en el número de frutos por planta y aumentos de 25 % en la producción total. En maíz dulce, la inoculación a la siembra con diferentes cepas de *A. brasilense* produjo aumentos del 3% al 23% en el número de choclos, mazorcas con mayor o igual contenido de azúcares que el control sin inocular y aumentos en el tenor proteico del grano del 3% al 8%. En lechuga mantecosa cv. Lores, las plántulas producidas en bandejas de germinación con turba como sustrato e inoculadas con 1×10^7 ufc.planta⁻¹ de M3 a la siembra, presentaron un aumento significativo del número de hojas de la plántula, superando en 21% al control, y aumentos del 34% en el peso fresco. A nivel de raíz, la inoculación produjo incrementos significativos ($p \leq 0,05$) en la superficie del área de absorción y peso fresco, superando al control en 35% y 50%, respectivamente. Estas respuestas se observaron también con la aplicación de igual dosis de M5. Después del transplante en invernáculo, las plantas inoculadas a la siembra, al transplante y en ambos momentos combinados, resultaron más precoces, incrementándose significativamente la cantidad de hojas formadas a los 30 días post-transplante, mientras que a cosecha se observaron efectos favorables de la inoculación sobre el peso medio de planta, con diferencias significativas respecto al control. En plántulas de pimiento, la inoculación con M3 y M5 incrementó significativamente el área de absorción de la raíz y el peso fresco de la planta. *A. brasilense* presentó efectos favorables en el crecimiento y producción de las especies hortícolas ensayadas, siendo de interés continuar con este tipo de ensayos para evaluar respuestas en otras especies, distintas dosis y técnicas de aplicación, objetivo de estudio del próximo proyecto.

AT2_021 O DESENVOLVIMENTO DOS INOCULANTES NO BRASIL

Jardim Freire, João Ruy¹; Villamil Bangel, Eliane²

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Brasil); ² Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária - FEPAGRO (Brasil)
eliane-bangel@fepagro.rs.gov.br

A atividade de pesquisa, no Brasil, em Fixação Biológica do Nitrogênio em leguminosas ocorreu inicialmente em São Paulo, no Instituto Agrônomo de Campinas, onde há referência, em 1930, de produção de inoculantes com culturas da bactéria e seleção de cepas. Em 1949, no Instituto Biológico (São Paulo), havia produção de inoculantes para soja e alfafa. Entretanto, essas atividades não tiveram grande seguimento, devido ao plantio de soja e de outras leguminosas ter tido pouca expressão na região e ficar restrito às estações experimentais. No Rio Grande do Sul (RS), a soja foi introduzida, no início do século XX, na região de Santa Rosa, em plantios de minifúndio e usada como ração para suínos. Devido ao estabelecimento de empresas de extração do óleo, ocorreu, na década de 40, a expansão para o planalto rio-grandense, em grandes áreas de solo e de topografia adequadas. A expansão do plantio de soja no RS e daí, no Brasil, estimularam o desenvolvimento das pesquisas, a busca de cepas mais eficientes da bactéria e o estabelecimento da indústria de inoculantes. Na poeira das sementes de soja trazidas na bagagem de pioneiros do exterior, especialmente dos Estados Unidos, veio a bactéria simbiótica como, também, a introdução de cepas através da importação de inoculantes americanos. O Banco de Germoplasma de Rizóbio (Coleção SEMIA) do Laboratório de Fixação Biológica do Nitrogênio da Fepagro foi formado a partir de 1950, paulatinamente, com isolamentos locais e culturas introduzidas dos Estados Unidos, Austrália, Instituto Agrônomo de São Paulo, e IPEAS (atual Embrapa Agrobiologia). A partir de 1950, no antigo Setor de Bacteriologia da Secretaria da Agricultura do RS (hoje Fepagro), em experimentos de câmara de crescimento, de casa de vegetação (em areia e solo) e de campo, foram selecionadas as estirpes mais eficientes para leguminosas de grão e forrageiras de clima temperado. Para soja, a seleção resultou em 23 cepas mais eficientes e duas foram selecionadas por eficiência, competitividade na formação de nódulos, tolerância sobre as sementes e persistência no solo (SEMIA 587, origem Fepagro; e SEMIA 5019, origem Embrapa Agrobiologia), as quais ainda são utilizadas na produção de inoculantes comerciais. Em 1954, no Setor de Bacteriologia, passou-se a utilizar a turfa como veículo, chegando-se a produzir, em 1956, 10.000 doses de inoculantes para soja, suficiente para 8.000 hectares. Em 1956, estabeleceu-se a primeira empresa privada produtora de inoculante no Rio Grande do Sul. Em 1980 havia seis indústrias produtoras brasileiras e, em 1989, a produção de inoculantes atingiu 16 milhões de doses, sendo 95% para soja. A partir de 1992, as cepas SEMIA 5079 e SEMIA 5080 (isolamentos da Embrapa Cerrados: CPAC 15 e CPAC 7, respectivamente) passaram, também, a ser recomendadas para soja. Atualmente, estão registrados 15 estabelecimentos produtores de inoculantes e 48 estabelecimentos importadores de inoculantes que comercializam ao redor de 22 milhões de doses do produto para o cultivo de soja no país.

AT2_022 DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICAS RÁPIDAS PARA ANÁLISE DA IDENTIDADE E QUALIDADE DE INOCULANTES MISTOS PARA A AGRICULTURA.

de Barros Soares, Luis Henrique¹; de Souza Vicente, Marlei¹; Massena Reis, Veronica¹; Baldani, José Ivo¹

¹ Embrapa Agrobiologia (Brasil)
luis.henrique@cnpab.embrapa.br

A inoculação de culturas leguminosas com produtos inoculantes à base de rizóbios específicos é uma prática amplamente dominada e recomendada pelas instituições de pesquisa, reconhecida pelas companhias de insumos agrícolas, assistência técnica e extensão, e bem aceita pelos produtores rurais. Novas estirpes, cada vez mais eficientes ou adaptadas para condições específicas, são constantemente identificadas, testadas e validadas junto às variedades em uso, ou mesmo inseridas em programas de melhoramento vegetal. Deste modo, a fixação de nitrogênio pela via biológica consolida-se como prática agrícola sustentável, e amplia seu raio de ação para culturas florestais e em sistemas de produção com adubação verde, por exemplo. Atualmente, no Brasil, verifica-se que grandes empresas de agroquímicos estão direcionando seu interesse para o desenvolvimento de produtos biológicos com potencial de utilização em larga escala, e isto acontece na mesma medida em que o conceito de microrganismos promotores do crescimento vegetal se consolida e amplia, e o desenvolvimento de insumos biológicos para a agricultura passa a contar com soluções mais complexas envolvendo culturas mistas. Nesta situação, tem-se frequentemente microrganismos com papéis distintos, localização variável e atuação complementar na promoção do desenvolvimento de plantas. Muitas vezes a experiência não é suficiente para avaliar a presença de microrganismos em um produto, ainda mais quando estes produtos contêm mais de uma espécie, ou mesmo diferentes estirpes, e se sabe que os meios de cultura tradicionalmente usados não possuem o grau de seletividade desejado, permitido o crescimento de outros microrganismos afins, ou mesmo contaminantes. Com a tendência óbvia de induzir o aporte de qualidade aos produtos, a legislação sugere que técnicas moleculares sejam desenvolvidas em adição aos testes de microbiologia básica, no que diz respeito à avaliação da identidade e qualidade dos produtos inoculantes em desenvolvimento para o mercado. Na Embrapa Agrobiologia desenvolve-se técnicas moleculares de avaliação e caracterização da presença de uma determinada estirpe recomendada em produtos inoculantes. As estirpes são crescidas individualmente em meios semi-seletivos para caracterização individual. Diluições seriadas e plaquamentos são realizados para contagem da carga microbiana e para a avaliação da presença de contaminantes. Metodologias de avaliação de sequências gênicas amplificadas pela reação em cadeia da polimerase como BOX-PCR estão sendo aplicadas inicialmente para a caracterização das cinco estirpes de bactérias que devem estar presentes no inoculante para cana-de-açúcar, que já está sendo lançado para comercialização. Os resultados obtidos até o momento mostram que é possível obter um padrão bem distinto de bandas para estas cinco estirpes, e que se pode identificá-las individualmente com pelo menos 8 bandas amplificadas de DNA específicas para cada estirpe, correlacionando com as estirpes padrão. Misturas de estirpes estão sendo testadas em pares, e a técnica de amplificação por BOX-PCR está sendo adaptada para permitir a diferenciação. Alguns inoculantes desenvolvidos por empresas comerciais, prestes a entrar no mercado, também já foram avaliados e sua composição foi validada desta mesma maneira. Projeto financiado pela Faperj: E-26/112.020/2008

18:30 a 19:30

XXV RELAR y I MIPCV

Conferencia invitada

Las empresas spin-off como herramienta para la transferencia del conocimiento

Conferencista: *Manuel Megías* (España)

CI_001 LAS EMPRESAS SPIN-OFF COMO HERRAMIENTA PARA LA TRANSFERENCIA DEL CONOCIMIENTO

Megías, Manuel¹; Ollero, Francisco Javier²

¹ Universidad de Sevilla (España); ² Dpto. Microbiología. Universidad de Sevilla (España)
megiasg@us.es

La transferencia de conocimiento desde los organismos públicos a las empresas biotecnológicas es una de las claves fundamentales para la generación de riquezas en los países. La dependencia tecnológica es una de las lastras más importantes que sufren la mayoría de los países del mundo, dejando en manos de muy pocos países el control de la tecnología y por consiguiente de la economía mundial. ¿Qué es una "spin-off"? Muchos, fuera del ámbito científico y académico, preguntan cuál es su función y si realmente es eficaz. Estas empresas derivadas, también llamadas Empresa de Base Tecnológica (EBT) es una realidad poco implantada y menos conocida, a pesar de las múltiples posibilidades que ofrece, ya que las puertas se abren tanto para el científico o investigador universitario como para la sociedad y el mundo empresarial. La sociedad se beneficia de nuevos productos, de valor añadido, desarrollados por conocimientos generados y por especialistas en las diferentes áreas científicas y técnicas desarrolladas. El mundo empresarial amplía su espectro. Surgen nuevas relaciones, nuevos modelos, nuevas formas de invertir y nuevas formas de producir. "Spin-off" es un término anglosajón que expresa la idea de la creación de nuevas empresas en el seno de otras empresas u organizaciones ya existentes, sean públicas o privadas, que actúan de incubadoras. Con el tiempo acaban adquiriendo independencia jurídica, técnica y comercial. Conocidas también como Empresa de Base Tecnológica, suele estar ligada a la universidad u organismo público de investigación y contribuir a la transferencia de conocimientos científicos desde esta al sector social en forma de productos innovadores. Los elementos motores de estas empresas lo constituyen fundamentalmente los investigadores, pero existen un conjunto de elementos básicos que no podemos olvidar y que articulan el éxito y desarrollo de estas empresas, tales como las OTRIS (Oficinas de Transferencia de los Resultados de la Investigación) universitarias o de centros de investigación, las incubadoras o viveros de empresas y los parques científicos y tecnológicos en los que se articulan. Todo en apoyo de la spin-off constituida ya como una nueva forma de emprender y una forma de investigar.

Miércoles 7

09:00 a 09:50

XXV RELAR y I MIPCV

Área Temática 3: Mecanismos de PCV por microorganismos

Coordinador: *Nora Altier*

Coordinador: *Alicia Arias*

Promoción del crecimiento vegetal: Una mirada básica y tecnológica de la producción bacteriana de fitohormonas y otros mecanismos de regulación.

Conferencista: *Fabricio Cassán* (Argentina)

Mechanisms in biological control of plant pathogens by rhizobacteria

Conferencista: *Claudio Valverde* (Argentina)

AT3_001 PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO VEGETAL: UNA MIRADA BÁSICA Y TECNOLÓGICA DE LA PRODUCCIÓN BACTERIANA DE FITOHORMONAS Y OTROS MECANISMOS DE REGULACIÓN.

Cassan, Fabricio¹; Molina, Romila¹; Pierantonelli, María Belen¹

¹ Laboratorio de Fisiología Vegetal y de la Interacción planta-microorganismo. Departamento de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina)
fcassan@exa.unrc.edu.ar

El suelo es el soporte natural para el crecimiento y desarrollo de las plantas. En este soporte, adicionalmente proliferan una importante cantidad de bacterias y de hongos, que constituyen de la denominada microflora edáfica. Se utiliza el término rizósfera para describir la fracción del suelo en la que el crecimiento de los microorganismos se ve favorecido por el desarrollo del sistema radical. Cuando las bacterias se desarrollan en la rizósfera, se las denomina rizobacterias y cuando adicionalmente son benéficas para el crecimiento y desarrollo de las plantas, se las denomina PGPR o del inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria. De acuerdo al grado de interacción y asociación con la planta, las PGPR pueden ser clasificadas en simbióticas o de *vida libre* y particularmente en el segundo grupo, pueden asociarse de manera rizosférica o endofítica para ejercer su efecto benéfico sobre la planta. Así, las PGPR podrán facilitar, regular o promover el crecimiento y desarrollo vegetal, tanto en condiciones óptimas como sub-óptimas, por la expresión individual o conjunta de mecanismos directos o indirectos, bioquímicos o fisiológicos de interacción. En el caso particular de los mecanismos directos de promoción del crecimiento, éstos se relacionarán con la captación o asimilación bacteriana de nutrientes esenciales para el desarrollo vegetal, tales como nitrógeno, fósforo o hierro, o con la biosíntesis de moléculas con capacidad de modificar el plan de crecimiento y desarrollo de las plantas, tales como enzimas, fitohormonas y/o reguladores del crecimiento. Particularmente sobre estos dos últimos grupos, sabemos relativamente poco, en comparación con los complejos modelos funcionales de regulación y biosíntesis, descriptos en plantas superiores. Por ello, parte del objetivo de esta presentación será: (1) describir los principales géneros bacterianos capaces de sintetizar o metabolizar fitohormonas y otros compuestos reguladores del crecimiento vegetal; (2) correlacionar la capacidad de tales microorganismos para producir los mencionados compuestos en medio de cultivo definido y promover el crecimiento vegetal en condiciones de interacción con plantas superiores; (3) abordar aspectos de la síntesis o metabolismo de fitohormonas en condiciones sub-óptimas de crecimiento, generadas por la presencia de efectores de estrés biótico o abiótico; así como de la sincronización de la respuesta bacteria-planta a la condición de estrés ambiental, y (4) generar una descripción actual y una clasificación funcional de los productos agrícolas formulados a base de PGPR (inoculantes), en relación a su capacidad de modificar el patrón de crecimiento y desarrollo de las plantas, por la presencia de compuestos del tipo fitohormonas o reguladores del crecimiento.

AT3_002 MECHANISMS IN BIOLOGICAL CONTROL OF PLANT PATHOGENS BY RHIZOBACTERIA

Valverde, Claudio¹

¹ LBMIBS - Departamento de Ciencia y Tecnología - Universidad Nacional de Quilmes (Argentina)
cvalver@unq.edu.ar

Plant diseases result in lower crop yields and economical losses. On the plant side, breeders look for resistant or more tolerant varieties, whereas biotech research groups or companies struggle against ethical issues to introduce genetically engineered crop species. On the other hand, the use of agrochemicals, the traditional weapons against plant pathogens, also faces increasingly strict regulatory rules aiming to reduce environmental impact and pollution. In this context, attention has been shifted to naturally occurring biological processes which could be exploited as an alternative, or perhaps more realistically, as a complement to traditional strategies in order to ameliorate pathogenic effects and to reduce environmental concerns. Thus, biological control (biocontrol) of plant root and shoot pathogens by microorganisms might contribute to shorten agrochemical inputs and cooperate with breeding and GMO technologies. Plant pathogens include fungal and bacterial species, nematodes, as well as insects. There is evidence that these threatening organisms can be naturally antagonized by rhizospheric bacteria. Among characterized biocontrol bacteria, we found members of the *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus* and *Streptomyces*, although the names in this list have been most probably biased by their culturability and ease to study in the lab. Understanding mechanisms beneath biological control of plant pathogens may help to design application strategies including combinations of strains displaying different biocontrol mechanisms, or engineered strains with enhanced biocontrol potential. Here, the mechanisms so far described to be involved in biocontrol of plant pest agents by rhizobacteria will be discussed, as well as their regulation by cellular and environmental factors, and signals from other organisms. The model biocontrol bacterium *P. fluorescens* CHA0 will serve to illustrate the importance of a regulatory system controlling extracellular metabolite production and the resistance to predation by eukaryotes, a biological pressure which has been recently identified as a major shaping force of biocontrol communities in the rhizosphere. Similarly, the role of the crop species in shaping the biocontrol population structure will be briefly discussed. It is envisioned that improving the knowledge on the nature and regulation of biocontrol mechanisms, it will help to reduce the gap between biological control of plant pests in the lab and performance of biocontrol agents in the field.

09:50 a 10:30

XXV RELAR y I MIPCV

Presentaciones orales AT3

AT3_003 RESPUESTA DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) SOMETIDO A ESTRÉS SALINO A LA MICORRIZACIÓN.

1. INDICADORES NUTRICIONALES

Medina Basso, Nicolás¹; Medina García, Laura¹

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) (Cuba)
medinabasso@gmail.com

Para determinar la efectividad de cepas de HMA, nativas de suelos con altos contenidos de sales, sobre el estado nutricional de plantas de tomate sometidas a estrés salino, se desarrolló un estudio en condiciones semicontroladas en las áreas experimentales del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), en San José de las Lajas, La Habana. Como material fúngico se empleó un conglomerado de 28 cepas nativas (obtenidas al reproducir las especies encontradas en un suelo afectado por altos contenidos de sales), un inóculo certificado a base de cepas de *Glomus hoyi*-like (proveniente del cepario del Laboratorio de Micorrizas del INCA) y la composición de cepas nativas que existían en el sustrato de origen. Los tratamientos salinos fueron impuestos a partir de diferentes concentraciones de NaCl en el agua del riego: 0, 50 y 100 mM, empleando el tomate (*Solanum lycopersicon* L.) como planta indicadora. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente aleatorizado con arreglo bifactorial (3 x 3), donde los factores estudiados fueron las cepas de HMA y los niveles de salinidad, en los cuales se evaluó la efectividad del conglomerado aislado de las cepas en estudio sobre algunos indicadores de la colonización micorrízica y se caracterizó la respuesta nutricional del cultivo a la inoculación con estas cepas. Los resultados mostraron que, bajo condiciones de estrés salino, el conglomerado compuesto por las especies aisladas del suelo con alto contenido de sales fue efectivo en la colonización de las raíces de tomate, reduciendo la entrada de Na a la planta e incrementando la eficiencia en la absorción de N, P y K por el cultivo, todo lo cual puede constituir un importante mecanismo para aliviar el estrés en plantas que crecen en suelos salinos.

AT3_004 PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN PÉPTIDO CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PRODUCIDO POR LA CEPA *Pseudomonas fluorescens* CFBP2392.

Riera, Nadia¹; Balsa, Natalia²; Arias, Alicia¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana IBCE (Uruguay); ² Laboratorio de Ecología Microbiana IBCE, Sección Bioquímica Facultad de Ciencias (Uruguay)
nadiarierafara@gmail.com

El control biológico en la agricultura es una práctica que se basa en la introducción de microorganismos vivos con el fin de controlar patógenos que afectan el crecimiento vegetal. Las *Pseudomonas fluorescens* han sido ampliamente estudiadas como agentes de biocontrol ya que actúan como promotoras del crecimiento vegetal y pueden tener varios mecanismos para suprimir las enfermedades de plantas. Dentro de estos mecanismos se destacan la competición por hierro, la antibiosis, la producción de enzimas líticas y la degradación de factores virulentos. La cepa *Pseudomonas fluorescens* CFBP2392 ha mostrado tener actividad como agente de biocontrol ya que suprime la enfermedad de root rot inducida por *Rhizoctonia solani* en tomate, disminuyendo la infección e interviniendo positivamente en el desarrollo de raíz y tallo. Anteriormente se han realizado estudios sobre esta bacteria para identificar y aislar los compuestos implicados en su actividad biocontroladora los cuales muestran que no produce ninguno de los antibióticos más caracterizados dentro del género *Pseudomonas* (como floroglucinol, pirrolnitrina, pioluteorina ni fenazinas).

El objetivo de este trabajo es purificar y caracterizar un metabolito con actividad antifúngica producido por la cepa *Pseudomonas fluorescens* CFBP2392. Para ello se eligió un organismo blanco para comprobar la actividad antagonista del metabolito, se seleccionó un medio de cultivo apropiado para maximizar su síntesis, y se evaluó un protocolo de purificación del compuesto. La elección del organismo blanco se realizó mediante ensayos de antagonismo *in vitro* de *Pseudomonas fluorescens* contra diferentes microorganismos. Los ensayos mostraron que esta cepa inhibe el crecimiento de *Clavibacter michiganensis*, *R. solani*, *Alternaria* sp., *Fusarium oxysporum* y *Pythium debaryanum* (en los últimos dos casos dependiendo del medio de cultivo). La mayor actividad inhibitoria se observó contra un aislamiento de *R. solani* AG3. La selección del medio de cultivo se realizó comparando la actividad inhibitoria de la cepa de *P. fluorescens* frente al hongo *R. solani* en un medio de cultivo rico y varios medios sintéticos con el agregado de aminoácidos. Se comprobó que había una mayor actividad en un medio mínimo para *Pseudomonas* con cas aminoácidos y triptófano; la utilización de un medio sintético permitirá simplificar el proceso de purificación. Mediante extracción con acetato de etilo y cromatografía en capa fina (TLC) se identificó una fracción con actividad antifúngica. Actualmente se está ajustando su separación por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para lograr una pureza adecuada para su análisis espectroscópico.

Hoy en día se hace particularmente importante la identificación y el registro de nuevos antibióticos tanto para la industria agrícola como clínica. Estos compuestos apuntan a una mejora en el sector ambiental ya que pueden ser utilizados como una alternativa al uso de fungicidas químicos.

AT3_005 EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE RESISTENCIA SISTÉMICA POR UNA RIZOBACTERIA NATIVA, COMO ESTRATEGIA PARA LA PROTECCIÓN CONTRA FITOPATÓGENOS FÚNGICOS DE MANÍ.

Tonelli, María Laura¹; Taurian, Tania¹; Argüello, José²; Fabra, Adriana¹

¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² Worcester Polytechnic Institute (Estados Unidos)
mtonelli@exa.unrc.edu.ar

La Resistencia Sistémica Inducida resulta de la respuesta producida por la planta a compuestos sintetizados por bacterias inductoras. Este mecanismo de defensa se caracteriza por la generación de un estado de "priming" en el cual las respuestas relacionadas a la defensa vegetal son inducidas con mayor rapidez y/o eficiencia luego del ataque de un patógeno, resultando en un incremento de la cantidad y/o actividad de componentes celulares como aquellos involucrados en la síntesis de fitoalexinas, lignina y suberina. Estos compuestos están formados por fenilpropanoides en cuya síntesis está involucrada la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL).

Los objetivos planteados en este trabajo fueron evaluar si el sistema de defensa de maní es inducido sistémicamente, disminuyendo la severidad del marchitamiento causado por *Sclerotium rolfsii* y determinar el estado de "priming" en plantas inducidas, mediante el análisis de la actividad y expresión de la enzima PAL.

Las raíces de plántulas de maní se separaron en dos tubos a los que se les agregó medio Hoagland (Hoagland, 1950) agarizado al 0,6%. Una de las partes del sistema radical fue inoculada con *Bacillus* sp. CHEP5 y luego de una semana, la parte restante se inoculó con *S. rolfsii*. Dos semanas posteriores a la inoculación con el fitopatógeno se evaluó la severidad de la enfermedad y se determinó en hojas la actividad PAL de acuerdo a la metodología de Paynet y col. (1971). La expresión de *pal* se determinó por PCR en Tiempo Real.

El peso seco radical/aéreo, longitud radical/aérea y el contenido de clorofila determinados fueron superiores en plantas coinoculadas con *Bacillus* sp. CHEP5 y *S. roffsii*, en comparación con plantas inoculadas sólo con el patógeno. La actividad de PAL aumentó en las plantas de maní inoculadas con *B. sp. CHEP5*, aún en presencia del fitopatógeno. Si bien en plantas tratadas sólo con *S. roffsii* se registró un aumento en la actividad de PAL, éste fue menor al determinado en plantas coinoculadas con el biocontrolador y el patógeno, lo cual indicaría un efecto de "priming" desencadenado por inducción de la bacteria biocontroladora. La medición del nivel de expresión de *pal* mostró que éste se incrementa en plantas inoculadas sólo con el patógeno. Sin embargo, no permitió confirmar a nivel de regulación transcripcional que *Bacillus* sp. CHEP5 induzca el fenómeno de "priming", probablemente debido a que participan en el mismo otras isoformas enzimáticas diferentes a la codificada por el gen estudiado o a una regulación postranscripcional del producto del mismo.

En conclusión, maní mostró ser una planta susceptible de inducir sistémicamente su respuesta de defensa, mecanismo que sería efectivo en disminuir la severidad de la enfermedad producida por *S. roffsii*. Además, la resistencia sistémica inducida por *Bacillus* sp. CHEP5 produciría en la planta un estado de "priming", resultando en el incremento de la actividad de PAL. Subsidios: CONICET, SECyT-UNRC, MinCyT Córdoba, Comisión Fulbright.

10:30 a 11:00

Pausa

11:00 a 13:00

XXV RELAR y I MIPCV

Sesión de posters AT3

AT3_006 CARACTERIZACIÓN DE LA CAPACIDAD SOLUBILIZADORA DE FOSFATO *in vitro* DE BACTERIAS NATIVAS DE SUELOS MANISEROS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

Anzuay, María Soledad¹; Fabra, Adriana¹; Taurian, Tania¹

¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina)

manzuay@exa.unrc.edu.ar

El cultivo de maní es económicamente importante, siendo la Argentina uno de los principales exportadores a nivel mundial junto con China y Estados Unidos. Alrededor del 82% de la producción nacional se obtiene en la provincia de Córdoba. En esta región se han determinado bajos niveles de fósforo asimilable para las plantas; siendo este elemento uno de los nutrientes esenciales para su crecimiento. Ello se debe a que el fósforo soluble reacciona con iones de calcio, hierro o aluminio que provocan su precipitación o fijación. Un considerable número de especies bacterianas es capaz de ejercer un efecto beneficioso para las plantas y algunas están involucradas en procesos que afectan a la transformación del fósforo del suelo. Se ha propuesto que el principal mecanismo de solubilización de fosfato mineral en bacterias Gram negativas es la oxidación directa de la glucosa a ácido glucónico, proceso que involucra la enzima deshidrogenasa y el cofactor PQQ. El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad solubilizadora de fosfato de rizobacterias nativas del área manisera de Córdoba mediante un análisis cuantitativo, producción de ácido glucónico y presencia del gen *pqqE*.

Se determinó cuantitativamente la capacidad solubilizadora de fosfato en medio líquido, suplementado con fósforo insoluble, en 18 aislamientos obtenidos de plantas de maní. Se incluyó una cepa de *Pseudomonas fluorescens* solubilizadora de fosfato empleada como fertilizante fosforado. Se determinó dicha capacidad a las 24, 48, 72 y 168 hs de crecimiento y, simultáneamente, se determinó el pH del sobrenadante y la viabilidad de las bacterias. La presencia del gen *pqqE* fue determinada mediante PCR y la producción de ácido glucónico en el tiempo de máxima solubilización de fosfato. Las bacterias fueron identificadas taxonómicamente mediante análisis de la secuencia del gen ARNr 16S.

La cuantificación de la capacidad solubilizadora en medio líquido permitió agrupar a los aislamientos en 4 grupos diferentes dependiendo del momento en el cual producían el máximo nivel de fósforo soluble. La presencia del gen *pqqE* fue observada en 7 de los aislamientos Gram negativos (60%) y en la cepa *Ps. fluorescens*. Los valores de ácido glucónico liberados al sobrenadante por las bacterias oscilaron entre 15 y 1100 µg/ml. El análisis de las secuencias del gen ARNr 16S reveló que los aislamientos presentaron un alto porcentaje de identidad con bacterias de los géneros *Serratia*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Acinetobacter*, *Bacillus* y *Enterococcus*. Se puede concluir que la capacidad solubilizadora de fosfato fue variable entre los diferentes aislamientos analizados y que existiría una correlación entre la cantidad de fósforo soluble liberado y la cantidad de ácido glucónico producido por parte de los mismos, acompañado con una disminución del pH del sobrenadante. La amplificación de un fragmento del gen *pqqE* demostró que se encuentra en la mayoría de las bacterias Gram negativas analizadas.

Subsidiado por: CONICET, ANPCyT.

AT3_007 USO DE PROMOTORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPRS) EN EL CULTIVO DE MAÍZ

Durman, Sandra¹; Gonzalez Fiqueni, Fernanda¹; Vacca, Matías¹; Chiofalo, Laura¹; Geloso, Valeria¹

¹ Laboratorios Biagro SA (Argentina)

sdurman@biagrosa.com

INTRODUCCION El cultivo de maíz es originario de América, actualmente es el cereal de mayor producción en el mundo seguido por el arroz y el trigo.

Dentro de los microorganismos de suelo encontramos un grupo muy importante conocido como "rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal" o PGPRs que se multiplican en la rizósfera de numerosos cultivos y allí ejercen su efecto benéfico en el desarrollo de los mismos.

OBJETIVO Evaluar la acción promotora de crecimiento de dos rizobacterias, una de ellas solubilizadora de fósforo, *Pseudomonas fluorescens* (Pf), aislada de rizósfera de maíz, y otra aislada de rizósfera de soja, *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* (Psa), y su combinación con fertilización fosforada. Para ello se planteó un ensayo a campo en la campaña 2008/2009. **MATERIALES y METODOS** Las cepas fueron formuladas en una matriz líquida, con ca 1 x 10⁹ ufc/ml. Se determinó una dosis de uso en semilla de maíz de 12 ml/kg.

Los tratamientos evaluados fueron: Testigo sin inocular y fertilización con P (dosis completa, 100 kg DAP/ha); Inoculación con Pf y fertilización con P (media dosis); Inoculación con Psa y fertilización con P (dosis completa).

El ensayo se desarrolló con un diseño completo de bloques al azar, con 5 repeticiones. El ensayo se instaló el 8/12/09 en Azul-pcia Buenos Aires, sobre un lote trabajado bajo siembra convencional con un tenor de P de 16,8 ppm, pH 6,12. A partir de V4 el cultivo sufrió un estrés hídrico importante.

Se realizaron muestreos en los estadios V2, V7 y cosecha, para determinar parámetros de promoción de crecimiento y componentes de rendimiento. **RESULTADOS**

En diferentes estadios del cultivo se evaluaron parámetros de promoción de crecimiento vegetal, y el rendimiento a cosecha. Se detectaron diferencias significativas (P < 0.05) en 3 de los parámetros analizados.

Tratamientos	V2-V3 Peso Raíz (g)	V7 Peso Vastago (g)	Cosecha Rendimiento (kg/ha)
Testigo	2.31 b	50 b	2502 b
Pf 1/2 P	3.23 a	59 b	4322 a
Psa	2.55 b	84 a	3401 b

CONCLUSIONES

Se observó un efecto promotor del crecimiento del cultivo de maíz por parte de ambos microorganismos evaluados, que presentaron diferencias con el testigo sin inocular. En el caso del tratamiento con Pf podemos considerar también que recibió la mitad de la dosis de fertilizante a base de P que el testigo, logrando aumentos de rinde y por ende un uso más eficiente de los fertilizantes aplicados al cultivo. Esto significa ahorro en fertilizante y un menor impacto ambiental. Considerando la condición de sequía podemos inferir que el logro de mayores raíces en los tratamientos inoculados influyó para que el cultivo captara más agua del perfil.

AT3_008 EVALUACIÓN DE MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL EN EL CULTIVO DE TRIGO

Gonzalez Fiqueni, Fernanda¹; Durman, Sandra¹; Vacca, Matías¹; Espinoza, Juan¹; Pueyo, Ivan¹

¹ Laboratorios Biagro SA (Argentina)

mfernanda@biagrosa.com

El trigo es una especie invernal de elevado potencial de crecimiento y respuesta a la tecnología, con requerimientos elevados de nutrientes, en comparación con otros cereales. Es uno de los cultivos de mayor difusión mundial. Dentro de las diferentes alternativas de manejo y tecnologías que se pueden aplicar a este cultivo se encuentra el uso de inoculantes formulados en base a microorganismos promotores del crecimiento vegetal o PGPRs, que están difundiendo cada vez más en cultivos extensivos debido a que la investigación ha demostrado los beneficios que dichos microorganismos aportan. *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* es una bacteria aislada de rizósfera de soja en Río IV, Córdoba. Esta bacteria posee la capacidad de producir un pigmento característico de color anaranjado con acción antifúngica. También libera fitohormonas como auxinas y citoquininas, que promueven un mayor desarrollo del vegetal. Es endófito, habiéndose encontrado en el interior de raíces y tallo en plantas de trigo. Una cepa de *Pseudomonas fluorescens* aislada de rizósfera de maíz, presentó una alta capacidad de solubilizar P, tanto por la producción de fosfatasa como por la liberación de ácidos orgánicos al medio. También presentó liberación de fitohormonas y sideróforos. Se encontró como endófito en los cultivos en los que fue inoculada. Estas dos especies se utilizan en la producción de inoculantes en formulación líquida: PSA Líquid y PROSOL. En la campaña 2010 se estableció un ensayo de trigo en Azul-Buenos Aires. El diseño establecido fue de parcelas en bloques al azar. La variedad de

trigo utilizada fue Baguette 9. El ensayo se sembró el 3 de agosto. Se establecieron los tratamientos según el inoculante usado: 1-testigo; 2-Psa; 3-Prosol; 4-Psa+Prosol. La dosis de uso para ambas cepas fue de 10 ml/kg, mientras que el tratamiento combinado recibió 5 ml/kg de cada una. El otro factor analizado fue el efecto de la fertilización fosforada, para ello se trató el cultivo con 3 niveles de fertilización: sin fertilización; 60 kg/ha de PDA y 120 kg/ha de PDA. Se evaluó el rendimiento a cosecha, midiendo también peso de 1000 y espigas/m². No se observó interacción significativas entre los inoculante y la fertilización fosforada. La inoculación con los productos, solos o combinados incrementó significativamente ($P < 0.05$) el rendimiento (kg/ha) cuando se fertilizó con dosis completa o media de PDA. Componentes del rendimiento tales como P1000 y espigas/m² fueron significativamente ($P < 0.05$) mayores en los tratamientos inoculados y fertilizados con la dosis completa de PDA. En todos los casos, los valores mas altos se lograron al inocular con los dos productos combinados.

AT3_009 EFECTOS DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO Y MECANISMOS DE SOLUBILIZACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO AISLADAS DE RIZÓSFERA DE *Medicago sativa*

García, Patricia¹; Ronchi, Ana Lía¹; Grassano, Alicia¹

¹ Fac. Ciencias Exactas y Naturales. UNLPam (Argentina)

grassano@exactas.unlpam.edu.ar

El fósforo (P) es uno de los principales macronutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de plantas y microorganismos. La mayoría de los suelos agrícolas contienen grandes reservas de P total, de la que en algunas regiones una parte de la acumulación depende de la aplicación regular de fertilizantes. Para una alta producción de forraje se requiere entre otros factores una alta fertilidad en fósforo, se sabe además que la simbiosis *Sinorhizobium meliloti*- *Medicago sativa* es altamente sensible a la carencia de este elemento. En la región pampeana existen áreas que presentan niveles críticos de contenido de P disponible, el que predomina en forma de fosfatos insolubles como la hidroxiapatita y fluoroapatita. Los fosfatos inorgánicos aplicados como fertilizantes en gran parte son inmovilizados en el suelo y por ende no aprovechados. Se sabe que muchas bacterias crecen en medios con fosfatos insolubles y no solo asimilan el elemento sino que solubilizan gran proporción del mismo, liberándolo en cantidades muy superiores a su demanda nutricional. Por lo tanto se considera que la solubilización por microorganismos presentes en el suelo de rocas fosfatadas u otras fuentes de fósforo es una alternativa fundamental para incrementar la disponibilidad de este nutriente. Por ello el objetivo de este trabajo es la caracterización y selección de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) para obtener un producto biotecnológico que solo o coinoculado con *Sinorhizobium meliloti* contribuya a la implantación y persistencia de la alfalfa. A tal fin se aislaron BSP de rizósfera de alfalfa o de suelos con historia de este cultivo de distintas áreas de la región pampeana. Se obtuvieron 54 aislamientos por su capacidad de solubilizar fósforo a partir de medios adecuados. Por métodos electroforéticos se seleccionaron los aislamientos distintos, se realizaron estudios microbiológicos y cinéticos de los mismos y luego una posterior selección mediante la cuantificación de P disponible a partir de fuentes de fósforo insolubles en medio acuoso (solución suelo). Con los más eficientes, solos o en combinación con *Sinorhizobium meliloti* se llevaron a cabo ensayos agronómicos en cámara y en invernáculo con plantas de alfalfa, para evaluar sus efectos de promoción. Al concluir el ensayo se cuantificó el rendimiento de parte aérea, % de N y ppm de P soluble. Posteriormente se seleccionaron dos aislamientos que se identificaron por medio de secuenciación de genes 16S rRNA como pertenecientes a los géneros: *Pseudomonas* y *Burkholderia*. Los aislamientos obtenidos mostraron una alta capacidad de promoción de crecimiento sobre alfalfa y que el mecanismo de solubilización de fosforo es a través de exudados ácidos.

AT3_010 THE INOCULATION OF *Rhodococcus* SP. MRP₁-24 ALLEVIATES SALINE STRESS IN MAIZE PLANTS

Castro, Marina¹; Analía, Príncipe¹; Rossi, Fernando¹;

Ferrari, Walter¹; Mori, Gladys¹; Jofré, Edgardo¹

¹ Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas Fco.-Qcas. y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina)

ejofre@exa.unrc.edu.ar

Salinity is one of the most important problems in irrigated soils of the arid and semi-arid areas in the world, because it limits crop yield and restricts use of land previously uncultivated. Under stressing conditions the plant hormone ethylene regulates plant homeostasis resulting in a reduced root and shoot growth. The inoculation of PGPRs containing the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase can reduce plant ethylene levels.

The aim of the present study was to analyze if the inoculation of a native rhizobacterial strain containing ACC deaminase could protect to maize plants from saline stress. We also studied if the protection mechanism was associated with the presence of the ACC deaminase enzyme in the bacterial strain, evaluating ethylene levels produced by plants grown under saline stress conditions and inoculated with this bacterial strain.

The strain MRP₁-24 was identified by sequencing the 16S rRNA gene and by the analysis of membrane fatty acid profile. Both studies concluded that the strain MRP₁-24 belong to *Rhodococcus* genus. Protection assays in maize plants were carried out in hydroponics cultures supplemented with 200 mM of NaCl and inoculated with *Rhodococcus* sp. MRP₁-24. After 15 days post-inoculation the dry weight of shoots and roots was determined. The results showed that the inoculation of *Rhodococcus* sp. MRP₁-24 to salt stressed plants increased shoot and root dry weight compared to non inoculated plants grown under saline stress conditions.

In order to analyze the effect of the inoculation of *Rhodococcus* sp. MRP₁-24 on plants ethylene levels, we measured ethylene production in plants grown during six days in saline stress conditions and inoculated with *Rhodococcus* sp. MRP₁-24. The results showed that ethylene levels decreased significantly in inoculated plants grown under saline stress compared with plants grown under saline stress but non-inoculated. Additionally, the dry weight of inoculated plants increased. These results demonstrated the existence of a correlation between the diminution of ethylene levels and the increment of biomass of plants inoculated with *Rhodococcus* sp. MRP₁-24.

To determine if ethylene is responsible for plant growth diminution observed under saline stress, we used the ethylene inhibitor 1-methylcyclopropane (1-MCP) which occupies ethylene receptors so that ethylene cannot bind and elicit action. We measured the relative growth rate (RGR) of maize plants grown under salinity conditions treated and non-treated with 1-MCP. The results showed that the RGR of roots treated with 1-MCP was higher than non-treated roots in the period of 48 and 72 hours post-treatment. RGR of shoots treated with 1-MCP was increased in the period of 12 and 60 hours compared with non-treated shoots. These results indicate that ethylene generated under salt stress conditions is responsible for maize growth diminution.

AT3_011 ACTINOMICETOS CON POTENCIAL BIOFERTILIZANTE Y FITOESTIMULANTE AISLADOS DE SUELOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE PLÁTANO EN EL CARIBE COLOMBIANO

Otero-Jiménez, Vanessa¹; Guerra-Nossa, Alejandra¹;

Sandoval-Lozano, Andres¹; Rodríguez-Villamizar,

Fernando¹

¹ Centro de Biotecnología y Bioindustria - CORPOICA-C.I.Tibatá (Colombia)

vanesotjim@gmail.com

El cultivo de plátano, uno de los productos más importantes a nivel nacional y mundial requiere de fertilización continua y uso de agroquímicos para prevenir problemas fitosanitarios, lo que deteriora el medio ambiente y aumenta los costos de producción. En busca de una posible solución a esta problemática, se plantea el uso de microorganismos nativos que provean a la planta los nutrientes necesarios para su desarrollo, producción y que adicionalmente sean capaces de disminuir el uso de agroquímicos. El objetivo de este trabajo consistió en aislar, seleccionar e identificar actinomicetos con potencial biofertilizante y fitoestimulante a partir de suelos asociados al cultivo de plátano en el Caribe colombiano. De acuerdo al nivel de producción de este cultivo, se seleccionaron tres municipios del Caribe colombiano, en los cuales se definieron zonas geomorfológicas homogéneas de donde se tomaron muestras de suelo rizósferico. Una vez recolectadas las muestras, se enviaron al Laboratorio de Microbiología Molecular del Centro de Biotecnología y Bioindustria de Corpoica (Mosquera-Colombia) para su análisis fisicoquímico y microbiológico. Para el aislamiento de los actinomicetos se utilizó agar avena y agar YEM suplementado con nistatina y a partir de estos, se registraron las características macro y microscópicas. Se determinó la solubilización de fosfatos cualitativamente por la producción de halos de acidificación y solubilización en agar SRS con carbonato de calcio y SRS con roca fosfórica, y cuantitativamente por la cantidad de fosfatos liberados en el medio. Se evaluó la producción de indoles totales por el método de Salkowsky y la fijación de nitrógeno mediante la prueba de reducción de acetileno (ARA). Adicionalmente se realizaron pruebas de antagonismo contra patógenos de interés para el cultivo de plátano (*Erwinia caratovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella tiphymurium* y *Fusarium oxysporum*). La identificación molecular se realizó por secuenciación de 16S rRNA. De acuerdo a los resultados fisicoquímicos, se encontró que los suelos son predominantemente franco-arenosos con pH de moderadamente ácido a neutros, materia orgánica de moderado a baja, altos contenidos en fósforo y bajos contenidos de potasio. Se aislaron en total 33 actinomicetos de los municipios de Dibulla(10), Curumani(20) y María la Baja(3). De los cuales 15 son fijadores de nitrógeno con valores promedio de 140 nmol/hora/ml; 7 son solubilizadores de fosfatos con valores entre 15 y 1478 ppm; 15 son productores de indoles totales con valores entre los 0,50 µg/ml a 13 µg/ml; 12 aislamientos presentaron antagonismo, de los cuales 9 contra *F. oxysporum*. De los 20 aislamientos identificados molecularmente 9 presentaron alta similaridad con *S. ansochromogenes*, 2 con *S. tubercidicus*, y los demás aislamientos con una especie diferente de *Streptomyces*. Con base en los resultados obtenidos, los actinomicetos aislados de la rizósfera del cultivo de plátano de la Costa Atlántica colombiana son potenciales promotores de crecimiento vegetal y antagonistas de patógenos del cultivo de plátano.

AT3_012 PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO EN VARIEDADES DE MAÍZ INOCULADAS CON BACTERIAS DIAZOTROFAS

Rodríguez Blanco, Andrea¹; Gutiérrez, Pamela¹; Sicardi, Margarita²; Frioni, Lillian¹

¹ Microbiología, Facultad de Agronomía, Udelar (Uruguay); ² Microbiología del suelo, Facultad de Ciencias, Udelar (Uruguay)
andrearb@fagro.edu.uy

El cultivo de maíz requiere grandes cantidades de fertilizante nitrogenado para obtener un buen rendimiento. Gran parte del fertilizante aplicado no es utilizado por la planta lo que contribuye a la contaminación con nitratos de suelos y aguas. En los últimos años, para minimizar el uso de fertilizantes y potenciar el desarrollo de una agricultura sustentable, se ha apostado al uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, entre las que se encuentran las bacterias fijadoras de N₂ o diazotrofas. En este trabajo se caracterizaron 8 cepas diazotrofas aisladas de suelo rizosférico y endófitas de raíz y tallo de dos variedades de maíz. Las cepas se identificaron dentro de los géneros *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Raoultella* y *Ochrobactrum*. Los aislamientos presentaron variabilidad en características promotoras del crecimiento vegetal (producción de ácido indol acético, solubilización de fosfato tricálcico, inhibición de *Fusarium oxysporum in vitro*) y actividad hidrolítica moderada sobre los polímeros pectina y carboximetil celulosa, que podría contribuir al ingreso de las bacterias a la planta. Se evaluó el efecto de la inoculación con cada una de las cepas sobre la biomasa radical y aérea de plantas de maíz de las variedades NK940 y PAU871. Se observó una marcada diferencia en la respuesta a la inoculación entre ambas variedades, independientemente del sistema de crecimiento de las plantas (condiciones gnotobióticas o macetas con suelo no estéril). Un efecto positivo en la biomasa aérea de la variedad PAU871 fue consecuencia de la inoculación con la mayoría de las cepas, mientras que en NK940 el efecto fue variable. La cepa *Raoultella terrigena* 10R fue la única que estimuló significativamente el crecimiento en la variedad PAU871 en ambos ensayos. Se realizaron recuentos mediante el método de NMP para determinar si la inoculación con las bacterias seleccionadas provoca variaciones en el número de diazotrofos endófitos y/o rizosféricos. Las plantas de ambas variedades de maíz crecidas en suelo no estéril e inoculadas con cada una de las cepas presentaron mayor número de diazotrofos rizosféricos en relación al control; mientras que no se presentaron diferencias significativas entre el número de diazotrofos endófitos de plantas inoculadas y el control. La aplicación de la técnica de T-RFLP en plantas de la variedad PAU871 crecidas en suelo mostró que la comunidad de diazotrofos endófitos de raíces de plantas inoculadas con la cepa 10R presentó diferencias con las comunidades del control y del resto de las plantas inoculadas. La inoculación no provocó cambios significativos entre las comunidades de suelo rizosférico. Estos resultados podrían indicar potencial capacidad de la cepa *Raoultella terrigena* 10R para colonizar los tejidos internos de esta variedad de maíz. Por otro lado, los resultados obtenidos confirman la influencia de ambos componentes de la interacción planta-diazotrofo a tener en cuenta en los estudios de inoculación.

AT3_013 CAPACIDAD ANTAGÓNICA DE CEPAS DE *Rhizobium* FRENTE A *Alternaria solani*, *Fusarium* SP. Y *Rhizoctonia solani*, BAJO CONDICIONES IN VITRO.

Santillana Villanueva, Nery Luz¹; Zúñiga Dávila, Doris²

¹ Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga-Ayacucho-Perú (Perú); ² Universidad Nacional Agraria La Molina-Lima-Perú (Perú)
nerysantillana@yahoo.es

La investigación se realizó con el objetivo de evaluar la capacidad antagónica de 19 cepas de *Rhizobium* aisladas de *Vicia faba* L. y *Pisum sativum* macrocarpum, frente a *Alternaria solani*, *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia solani*, hongos fitopatógenos procedentes del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga- Ayacucho. El experimento se realizó de acuerdo a protocolos descritos por Carr (2004). Se utilizó dos repeticiones por tratamiento y un control que consistió sólo de crecimiento fúngico. Las placas se incubaron a 28°C durante 15 días. Se consideró presencia de actividad antagónica, cuando se observó la inhibición del crecimiento fúngico frente a la línea de crecimiento bacteriano, por lo tanto menor desarrollo fúngico, que se verificó al medir el radio de la colonia fúngica. Al realizar el análisis de varianza del radio de colonias de *Alternaria solani* y *Fusarium* sp. se observó diferencias significativas entre cepas. Mediante la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P<0.05), las cepas de *Rhizobium* PVF01, PVF09, PEPSM12, PEPSM15 y PEPSM16 presentaron diferencias significativas frente al control. Dichas cepas inhibieron el crecimiento de *Alternaria solani* entre 31 y 49%. La prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P<0.05), demostró que las cepas de *Rhizobium* PVF02, PVF03, PVF05, PVF07, PVF08, PVF11, PEPSM12, PEPSM14, PEPSM15, PEPSM17 y PEPSM18 presentaron diferencias significativas frente al control, dichas cepas inhibieron el crecimiento de *Fusarium* sp. entre 28 y 43%. Ninguna de las cepas de *Rhizobium* inhibió el crecimiento de las colonias de *Rhizoctonia solani*; después de 15 días de incubación, todos los tratamientos presentaron crecimientos similares al control. Los resultados obtenidos muestran que los rizobios son también capaces de inhibir el crecimiento de hongos por lo que pueden ser usados como agentes potenciales de biocontrol contra hongos fitopatógenos.

13:00 a 14:30

Almuerzo

14:30 a 15:20

XXV RELAR y I MIPCV

Área Temática 4: Fisiología de bacterias PCV

Coordinador: *Silvia Batista*

Coordinador: *Antonio Lagares*

Influencia de la movilidad de *Bradyrhizobium japonicum* en la competencia para la nodulación de soja

Conferencista: *Aníbal Lodeiro* (Argentina)

Caracterización genómica y funcional de *Rhizobium* sp. LPU83: una bacteria modelo para estudiar la evolución de las rizobios noduladores de alfalfa

Conferencista: *Mariano Pistorio* (Argentina)

AT4_001 INFLUENCIA DE LA MOVILIDAD DE *Bradyrhizobium japonicum* EN LA COMPETICIÓN PARA LA NODULACIÓN DE SOJA

Lodeiro, Aníbal¹

¹ IBBM-Facultad de Ciencias Exactas. UNLP y CCT-La Plata CONICET (Argentina)
lodeiro@biol.unlp.edu.ar

La inoculación de los cultivos de soja con cepas seleccionadas de *Bradyrhizobium japonicum* debería impactar positivamente en el rendimiento. Sin embargo, esto suele ser impedido por la competencia de los rizobios del suelo para la nodulación.

La soja no es oriunda de nuestra región, por lo cual la microflora autóctona de nuestros suelos no contiene rizobios noduladores de soja (RNS). Sin embargo, la introducción de semillas inoculadas libera RNS al suelo, que se instalan y evolucionan como una población alóctona de RNS.

Poblaciones de sólo 10⁴ RNS alóctonos por gramo de suelo son suficientes para impedir la expresión del potencial fijador de N₂ del inoculante. Entre los factores que afectan su competitividad, uno muy importante es la movilidad de los rizobios en el suelo y por lo tanto, hemos encarado su estudio en forma detallada.

La movilidad de las bacterias puede clasificarse en siete formas diferentes, de ellas, la natación (swimming) y el pulular (swarming) requieren flagelos. Las bacterias que nadan lo hacen individualmente y en las tres dimensiones de un medio líquido, mientras las bacterias que pululan lo hacen agrupadas, desplazándose sobre las dos dimensiones de una superficie con la ayuda de sustancias surfactantes liberadas por la masa bacteriana. Se sospecha que el pulular sería el tipo de movimiento bacteriano sobre partículas de suelos no saturados de agua.

Bradyrhizobium japonicum posee dos flagelos: uno lateral grueso y otro peritrico y fino. El flagelo grueso gira sólo en sentido antihorario, mientras que el fino gira en ambos sentidos, lo cual se refleja en que mutantes desprovistos del flagelo fino nadan en forma más rectilínea mientras que mutantes desprovistos del flagelo grueso dan tumbos más frecuentemente. En diferentes fuentes de carbono el flagelo grueso es constitutivo mientras que el fino es inducible, lo cual podría indicar que éste es el requerido para pulular -un movimiento que requiere condiciones muy precisas en el medio. Así, los mutantes sin flagelo grueso son capaces de pulular (dependiendo de la fuente de carbono) y de nadar, aunque son menos competitivos que la cepa salvaje para nodular. Por el contrario, los mutantes desprovistos del flagelo fino son incapaces de pulular pero son más competitivos para nodular. Estos efectos se ven incrementados en sustratos inundados, lo cual indica que el tipo de movimiento que podría estar influenciando la competencia es la natación.

La movilidad de las cepas de laboratorio es mucho menor que la de RNS aislados de suelos de diversas regiones de Argentina, lo que podría también constituir un factor de competitividad para nodular.

Actualmente estudiamos los factores que regulan la biosíntesis de los flagelos y qué sistemas regulatorios podrían actuar en la conmutación de la expresión de uno y otro flagelo.

Agradecimientos: El autor es miembro de la Carrera del Investigador Científico del CONICET y su trabajo es financiado por el CONICET, la UNLP y la ANPCyT.

AT4_002 CARACTERIZACIÓN GENÓMICA Y FUNCIONAL DE *Rhizobium* SP. LPU83: UNA BACTERIA MODELO PARA ESTUDIAR LA EVOLUCIÓN DE LAS RIZOBIOS NODULADORES DE ALFALFA

Torres Tejerizo, Gonzalo¹; Del Papa, María Florencia¹; Lozano, Mauricio¹; Guisti, María de los Ángeles¹; Martini, Carla¹; Salto, Ileana¹; Salas, Eugenia¹; Lagares, Antonio¹; Pistorio, Mariano¹

¹IBBM (Instituto de Biotecnología y Biología Molecular), CCT-CONICET-La Plata, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (Argentina)
pistorio@biol.unlp.edu.ar

El cultivo de alfalfa ocupa en Argentina más de 4 millones de hectáreas destinadas esencialmente a la producción de forraje. La capacidad de la alfalfa para asociarse con la bacteria fijadora de nitrógeno *Ensifer* (*Sinorhizobium*) *meliloti* permite el uso rotativo del cultivo en combinación con plantas productoras de grano, manteniendo el contenido de N del suelo en niveles aceptables a lo largo de los años. La paulatina acidificación de los suelos es una limitante de la asociación de alfalfa con *E. meliloti*. Además de la asociación de alfalfa con *E. meliloti*, esta leguminosa es capaz de asociarse con *Ensifer medicae* y con un tipo menos caracterizado de rizobios denominados rizobios tipo Oregon. Estos rizobios se encuentran representados por las cepas *Rhizobium* sp. Or191 y *Rhizobium* sp. LPU83. Las principales características de este último grupo de bacterias son la tolerancia a la acidez y el amplio rango de huésped que poseen. Los rizobios tipo Oregon son capaces de nodular, al menos, alfalfa, *Phaseolus vulgaris* (poroto) y *Leucaena leucocephala*. Asimismo, son altamente competitivos para la nodulación de alfalfa en suelos ácidos. Sin embargo, estas cepas son ineficientes en la fijación biológica de nitrógeno en su asociación con alfalfa. Todos estos factores señalan a este grupo de rizobios como un potencial factor de riesgo en los suelos agrícolas en los que coexisten y compiten con *E. meliloti*, el simbiote eficiente de alfalfa. Además, la información genética disponible ha revelado que la estructura genómica de estos aislamientos es compleja, y parece poseer regiones genómicas de diferentes rizobios, lo que genera la dificultad de asignar una clara posición filogenética. Todas estas características hacen de los rizobios tipo Oregon un foco de interés desde el punto de vista evolutivo y agro-biotecnológico. En nuestro laboratorio hemos abordado la caracterización genómica estructural y funcional de la cepa de referencia de los rizobios tipo Oregon, *Rhizobium* sp. LPU83. Como parte de este trabajo realizamos el pirosecuenciamiento completo de *Rhizobium* sp. LPU83, lo que ha permitido la construcción del mapa físico completo del cromosoma y de dos de los tres plásmidos presentes en esta bacteria (pLPU83c y pLPU83a). A partir de los resultados del genoma hemos realizado genómica comparativa entre diversos rizobios para identificar similitudes y diferencias con la cepa *Rhizobium* sp. LPU83. En este trabajo presentamos la información funcional y genómica acumulada de las características de la de la cepa *Rhizobium* sp. LPU83.

15:20 a 16:00

XXV RELAR y I MIPCV

Presentaciones orales AT4

AT4_003 CRECIMIENTO DE *A. brasilense* EN CONDICIONES ESTÁTICAS: ROL DEL NO DURANTE LA FORMACIÓN DEL BIOFILM.

Pereyra, Cintia M.¹; Arruebarrena Di Palma, Andrés¹; Moreno Ramírez, Lizbeth²; Xiqui Vazquez, María L.²; Baca, Beatriz E.²; Pereyra, Alejandra³; Creus, Cecilia M.³

¹FCA, UNMdP, CONICET (Argentina); ²ICUAP (México); ³FCA, UNMdP (Argentina)
ccreus@balcarce.inta.gov.ar

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal constituyen un amplio grupo de microorganismos que benefician cultivos de importancia agronómica, entre las cuales el género *Azospirillum* es uno de los más estudiados y utilizados en inoculantes. *A. brasilense* posee amplia versatilidad de crecimiento en diferentes condiciones de disponibilidad de oxígeno, desarrollándose en aerobiosis, microaerobiosis y anaerobiosis. En todas las condiciones mencionadas posee la capacidad de desnitrificar. Esta vía constituye una de las principales fuentes de producción de óxido nítrico (NO), ya que una mutante isogénica de *A. brasilense* Sp245, denominada Faj164 deficiente en la nitrato reductasa periplásmica (Nap) produce sólo 5% de NO respecto a la cepa salvaje. El NO es una molécula reguladora de numerosos procesos fisiológicos en eucariotas y microorganismos. Recientemente se lo ha descrito como modulador de la formación de biofilm en los géneros *Pseudomonas* y *Nitrosomonas*. Los biofilm se definen como un conjunto mono- o multi-específico de microorganismos unidos a una superficie. La formación de biofilm sobre las raíces es un proceso necesario para alcanzar una exitosa colonización microbiana y posterior promoción del crecimiento vegetal. Los objetivos de este trabajo fueron: a) estudiar la cinética de crecimiento

de *A. brasilense* Sp245 y Faj164, en condiciones estáticas, en medios con NH₄⁺ o NO₃⁻; b) analizar la formación de biofilm en estas condiciones; y c) determinar el efecto del agregado exógeno de NO sobre la formación de biofilm. Ambas cepas fueron crecidas en medio NFB-NO₃⁻ ó -NH₄⁺ en placas de 24 pozos a 32°C, sin agitación durante 5 días. A las 24 horas, 3 y 5 días se determinó crecimiento total (DO_{540nm}) y formación de biofilm por la técnica de cristal violeta. El agregado exógeno del dador de NO (GSNO 50 µM) se efectuó cada 24 horas, determinando crecimiento y biofilm el día 3. Los resultados mostraron que en NH₄⁺ las cinéticas de crecimiento fueron similares en ambas cepas durante los 5 días. Por el contrario, en NO₃⁻ la cepa salvaje mostró mayor crecimiento el día 1 manteniéndose constante hasta el día 5. La cepa mutante incrementó su crecimiento progresivamente alcanzando su máximo el día 5, mostrando que la Nap posee un rol en el crecimiento estático. Ambas cepas mostraron una adherencia gradual a la placa de cultivo, formando un biofilm creciente pero con cinéticas diferentes. La cepa salvaje mostró más biofilm en medios con NO₃⁻ el día 3, sin diferir en NH₄⁺. El agregado de GSNO produjo el día 3 un aumento en la formación de biofilm en la cepa mutante, alcanzando el valor de la salvaje. Estos resultados indican que el NO regula la formación de biofilm en *A. brasilense* Sp245, lo cual podría tener importantes implicancias en la colonización de las raíces.

AT4_004 TOLERANCIA Y POSIBLE DEGRADACIÓN DE FENANTRENO POR *Rhizobium tropici* CIAT 899 EN VIDA LIBRE

González-Paredes, Yessica¹; Ormeño-Orrillo, Ernesto²; Mendoza-López, María Remedios³; Almaraz-Suarez, Juan José¹; Cruz-Sánchez, Jesús Samuel³; Ferrera-Cerrato, Ronald¹; Martínez-Romero, Esperanza²; Alarcón, Alejandro¹

¹Microbiología de Suelos, Posgrado de Edafología Colegio de Postgraduados Campus Montecillo (México); ²Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México (México); ³Servicio de Apoyo en Resolución Analítica, Universidad Veracruzana (México)
eormeno@ccg.unam.mx

El fenantreno (PHE) es un hidrocarburo policíclico aromático (HPA) que contiene tres anillos de benceno y es uno de los principales contaminantes según la agencia de protección ambiental (US EPA) ya que puede ser genotóxico y cancerígeno, es persistente y recalcitrante. La contaminación del suelo por este hidrocarburo ocurre durante la extracción, transporte y almacenamiento del petróleo y sus derivados. Se han buscado alternativas para limpiar los sitios contaminados con este tipo de compuestos, entre estas se cuenta el utilizar bacterias ya que pueden tolerar este compuesto y metabolizarlo por medio de enzimas como las dioxigenasas y hasta utilizarlos como fuente de carbono y energía para su crecimiento. Poco se conoce del potencial que tienen las bacterias fijadoras de nitrógeno, conocidas como rizobios, para eliminar HPAs. En este estudio se evaluó la tolerancia de *Rhizobium tropici* CIAT 899 a cinco concentraciones [20, 40, 60, 80, 100 µg mL⁻¹] de PHE en medio con extracto de levadura y manitol (medio ELM). Se observó crecimiento hasta la concentración de 40 µg mL⁻¹ mientras que a partir de 60 µg mL⁻¹ el crecimiento se vio inhibido. El crecimiento bacteriano también fue evaluado en medio líquido con 40 µg mL⁻¹ de PHE a diferentes tiempos (24, 48, 72, 96 h). A partir de las 48 h se observaron diferencias significativas en el crecimiento en medio con PHE en comparación al medio sin el HPA. A las 96 h se observó una disminución en el crecimiento del 70% en el medio contaminado. La posible degradación del HPA por CIAT 899 se evaluó en medio ELM adicionado con 40 µg mL⁻¹ de PHE. La concentración de PHE en el sobrenadante se monitoreó durante 96 h por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se observó una disminución (45%) en la cantidad de PHE a las 96 h en el medio inoculado con la bacteria, mientras que la concentración de PHE se mantuvo constante en el medio sin inocular. Se evaluó la capacidad de utilizar PHE como única fuente de carbono en medio mínimo a 50, 100 y 150 mM. No se observó crecimiento a ninguna de las concentraciones. En conclusión, *Rhizobium tropici* CIAT 899 no solo es tolerante a PHE sino que puede remover el compuesto de un medio líquido contaminado. Es posible que esta bacteria posea enzimas capaces de co-metabolizar este tipo de hidrocarburos, propiedad que puede hacerla interesante en estudios con fines de biodegradación. Este trabajo es apoyado por el Proyecto SEP-CONACYT 79456 "Simbiosis Tripartita *Rhizobium*-Leguminosa-Micorriza Arbuscular y su respuesta a los Hidrocarburos del Petróleo".

AT4_005 *In vivo* AND *in vitro* ANALYSIS OF THE NITROGEN-RELATED PTS OF THE SOIL BACTERIUM *Pseudomonas putida* KT2440

*Platero Labrucherie, Raul A.*¹; *Chavarria, Max*¹; *Santiago, Cesar*²; *de Lorenzo, Victor*¹

¹ System Biology Program CNB, CSIC (España); ² X-Ray Crystallography Unit, CNB, CSIC (España)
rplatero@cnb.csic.es

The phosphoenolpyruvate-carbohydrate phosphotransferase transport system (PTS) allows bacteria the hierarchical use of a wide range of carbohydrates through the interplay between the individual components of the ~P transfer machinery and other cellular targets. The canonical PTS system includes 5 constituents, namely Enzymell, HPr, Enzymell (usually carbohydrate-specific), and the transmembrane carbohydrate transporters EIIB/EIIC, which act in concert to bring the high-energy phosphate from phosphoenolpyruvate into the transported sugar. In addition to this core system, many bacteria bear carbohydrate-unrelated PTSs that keep the core phosphotransfer domains (EI/HPr/EIIC) but lack the associated transmembrane proteins needed for sugar intake. These systems have been named Nitrogen-related PTS (N-PTS) since one or more of their components are encoded in the *rpoN* operon. There is no clear evidence of the functions of this N-PTS or the stimulus that trigger the phosphorylation chain. Yet mutations in this system seem to affect carbon and nitrogen metabolism. *Pseudomonas putida* is a non-pathogenic Gram-negative bacterium endowed with remarkable metabolic capacities, including biodegradation of a suite of toxic environmental pollutants. One strategy to increase such biocatalytic potential involves the management of the mechanisms that integrate degradative pathways with other cellular functions, mainly nitrogen and carbon metabolism. The genome of the reference strain *P. putida* KT2440 encodes 5 PTS genes. Two of these (*fruA* and *fruB*) encode a complete system for fructose intake, while the other 3; *ptsP*, *ptsO* and *ptsN* compose a complete N-PTS branch. Previous work has shown that the N-PTS proteins influence carbon metabolism and biodegradative capacities of *P. putida* KT2440 (Cases *et al.*, 2001, Velázquez *et al.*, 2007). The main objective of the present work is to elucidate the factors that influence the activity of the N-PTS system of *P. putida*, specifically in its ability to control expression of biodegradative capacities. One way to modulate the activity of this system is probably through the control of the entrance of the high-energy phosphate to the system. In that sense, the first protein of the phosphorelay, PtsP, emerges as a key player since it has a N-terminal GAF domain that could function as a metabolic sensor. To shed some light on this question, isogenic mutants in each of the N-PTS genes were created and their phenotype studied. The activities of the mutant proteins were compared to those of the wild type protein both *in vivo* and *in vitro*. Transfer of phosphate through the system was studied *in vitro* and the role of the GAF domain assessed. The data obtained allowed us to refine the current model accounting for the activity of the N-PTS in *Pseudomonas putida* KT2440. Cases *et al.* 2001 J Bacteriol 183:1032-37, Cases *et al.* 2001 J Bacteriol 183:5128-33, Velázquez *et al.* 2007 J Bacteriol 189:4529-33

16:00 a 16:30

Pausa

16:30 a 18:30

XXV RELAR y I MIPCV

Sesión de posters AT4 y AT5

AT4_006 LA VÍA DE ASIMILACIÓN DE AZUFRE MEDIADA POR EL GEN *cysI* ES ESENCIAL PARA LA FIJACIÓN SIMBIÓTICA DE NITRÓGENO EN *Sinorhizobium (Ensifer) meliloti* 1021.

*Amarelle, Vanesa*¹; *Fabiano, Elena*¹

¹ IIBCE (Uruguay)
amarelle@iibce.edu.uy

En la bacteria simbiótica fijadora de nitrógeno *S. meliloti*, el sulfato puede ser asimilado por dos vías: una de ellas participa en la síntesis de los aminoácidos metionina, cisteína y otras moléculas azufradas, y la otra vía es específica para la sulfatación de los factores de nodulación. En *Escherichia coli* el sulfato asimilado es reducido a sulfito. La reducción de sulfito a sulfuro es llevada a cabo por la enzima sulfito reductasa la cual presenta dos subunidades: la α (codificada por el gen *cysJ*) y la β (codificada por el gen *cysI*). Mediante análisis *in silico* encontramos en *S. meliloti* 1021 un gen homólogo (29% de identidad) al gen *cysI* de *E. coli* K12. Sin embargo no encontramos ninguna secuencia con una similitud significativa al gen *cysI*. La información actualmente existente sobre el metabolismo de azufre en rizobio es escasa. Nos propusimos profundizar el estudio en esta temática en *S. meliloti*. En particular nos interesó determinar la función del gen *cysI* de *S. meliloti* en el metabolismo de azufre y en la interacción simbiótica con plantas de alfalfa. Dado la

ausencia de un gen homólogo a *cysJ*, nos interesa también determinar si la enzima sulfito reductasa difiere de las sulfito reductasas previamente descritas. Construimos una mutación en el gen *cysI* de *S. meliloti* 1021 por interrupción del gen con un gen reportero. La mutante fue incapaz de crecer con sulfato o sulfito como únicas fuentes de azufre, evidenciando una alteración de la vía de asimilación de sulfato. Sin embargo, pudo crecer con metionina o cisteína como únicas fuentes de azufre, lo cual indica que estos compuestos podrían ser internalizados y serían productos posteriores a la reacción catalizada por la sulfito reductasa. También sugiere que la bacteria posee los mecanismos necesarios para transformar cisteína en metionina y viceversa, indicando la presencia de una vía de transulfuración reversa. La mutante presentó un fenotipo simbiótico de tipo Nod⁺Fix⁺, es decir formó nódulos en raíces de alfalfa pero no fijó nitrógeno. Al analizar el contexto genómico del gen *cysI* en *S. meliloti* 1021, encontramos el siguiente ordenamiento génico: *cysG*, *smc1054*, *cysI*, *smc02123*, *fpr*. *CysG* está anotado como probable sirohemossintasa, *Smc1054* como proteína hipotética, *Smc02123* como posible proteína de asimilación de sulfato o sulfito y *Fpr* como probable ferredoxina-NADP-reductasa. El escaso espacio intergénico existente sugiere que estos cinco genes forman parte de un mismo operón. La interrupción del gen *cysI* con el gen reportero podría tener entonces un efecto negativo sobre alguno de los genes que se encuentran corriente abajo, por lo que actualmente nos planteamos un nuevo diseño experimental de manera de determinar la participación del gen *cysI* y de los genes que se encuentran corriente abajo, en la asimilación de sulfato y evaluar su participación en el proceso de fijación simbiótica de nitrógeno.

AT4_007 DOS HEMO-OXIGENASAS DE *Sinorhizobium meliloti* 1021

*Amarelle, Vanesa*¹; *Rosconi, Federico*¹; *Fabiano, Elena*¹

¹ Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. (Uruguay)
amarelle@iibce.edu.uy

Sinorhizobium meliloti (Ensifer meliloti) es una bacteria perteneciente al grupo de los rizobios, que ha sido objeto de exhaustivos estudios. Se sabe que el hierro es un elemento clave para estas bacterias y que su deficiencia tiene efectos negativos en el establecimiento de la simbiosis. También se ha demostrado que el hemo puede ser empleado como fuente de hierro nutricional pero se desconoce qué sucede una vez que este compuesto ha ingresado al interior celular. En otras bacterias, el hierro es liberado mediante la acción catalítica de las hemo-oxigenasas. Estas enzimas utilizan O₂ y un agente reductor para romper el anillo porfirínico liberando biliverdina, CO y hierro. Además de las hemo-oxigenasas "clásicas" se han identificado en bacterias otras enzimas con actividad similar pero diferente estructura así como un grupo de enzimas denominadas como "degradadoras de hemo", cuya reacción enzimática no es aún bien conocida. Mediante análisis *in silico* hemos encontrado un gen (*smc01518*) que codificaría para una proteína homóloga a hemo-oxigenasas pertenecientes a la familia de las mono-oxigenasas de antibióticos (ABM). También está presente un gen anotado como *hmuS*, el cual presenta homología con *hemS* (correspondiente a una posible proteína degradadora de hemo). Para determinar la participación de *Smc01518* y *HmuS* en la degradación de hemina, sobre-expresamos las mismas en *E. coli* y purificamos las proteínas recombinantes. Su capacidad de unir hemina fue evaluada mediante titulación espectrofotométrica, ya que la absorbancia a 405-410 nm es un indicador de la formación de complejos proteína-hemina. Los resultados obtenidos mostraron que ambas proteínas eran capaces de combinarse con hemina en una relación 1:1. Se comprobó la actividad hemo-oxigenasa de las proteínas recombinantes en presencia de un donador de electrones y O₂, ya que ambas proteínas fueron capaces de degradar hemina y se obtuvo biliverdina como producto final de la reacción. La desaparición de hemina fue evaluada mediante análisis espectrofotométrico y la identidad del producto final de la reacción por análisis de HPLC/MS. Interesantemente, se obtuvieron dos productos de igual masa que la alfa-biliverdina pero con diferentes tiempos de retención, sugiriendo la generación de distintos isómeros. Paralelamente estamos investigando la importancia de estas proteínas en la fisiología bacteriana. Con esta finalidad hemos mutado ambos genes y se está evaluando el fenotipo de las mutantes obtenidas. Resultados preliminares indican que una mutación en *smc01518* no altera el crecimiento bacteriano en medios con hemina como única fuente de hierro. Sin embargo, *Smc01518* tendría un papel importante en la simbiosis ya que las plantas de alfalfa inoculadas con esta mutante fueron menos eficientes en la fijación de nitrógeno. Por el contrario, la mutación en *hmuS* tendría un efecto apreciable en el crecimiento bacteriano en medios con hemina como fuente de hierro pero no presentaron un fenotipo simbiótico significativamente diferente al de la cepa salvaje.

AT4_009 EFECTO DE UNA MUTACIÓN EN EL REGULADOR CENTRAL DEL METABOLISMO DE HIERRO (RIRA) SOBRE LA ACTIVACIÓN DE LA CAPTACIÓN DE HEMINA EN *Sinorhizobium meliloti* 1021

*Cardeillac, Arianne*¹; *Amarelle, Vanesa*¹; *Rosconi, Federico*¹; *Costa, Daniela*¹; *Fabiano, Elena*¹

¹ Laboratorio de Bioquímica y Genómica Microbianas, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (Uruguay)
acardeillac@gmail.com

Sinorhizobium meliloti es una α -proteobacteria perteneciente al grupo de los rizobios. El proceso de fijación biológica de nitrógeno es totalmente dependiente del hierro debido a que éste forma parte del grupo prostético de varias proteínas claves como la nitrogenasa y algunos citocromos (proteínas producidas por el bacteroide) y la leghemoglobina (proteína aportada por la planta). *S. meliloti* puede utilizar el hemo, la hemoglobina y la leghemoglobina como fuentes de hierro. Estudios realizados en nuestro laboratorio, demostraron que el hemo es captado e internalizado por la bacteria por medio de un receptor de membrana externa denominado ShmR (*Sinorhizobium heme receptor*). Un vez en el periplasma, el hemo es luego internalizado al citosol por medio de transportadores de tipo ABC. Los α -rizobios poseen reguladores transcripcionales responsables del mantenimiento de la homeostasis de hierro. Estos reguladores difieren de los clásicos reguladores identificados en las bacterias modelo *Escherichia coli* o *Bacillus subtilis*. En *S. meliloti* la proteína reguladora RirA (Rhizobial iron regulator) controla la expresión del operon biosintético de la rizobactina (sideróforo producido por *S. meliloti*), del gen *shmR* y del operón *hmuPSTUV* (involucrado en la internalización de la rizobactina y del hemo).

En condiciones de suficiente disponibilidad de hierro, la expresión de estos genes es reprimida por RirA. Además existe un segundo nivel de regulación que involucra una proteína pequeña, HmuP que actúa como activador positivo de la transcripción del gen *shmR*. Homólogos a HmuP se encuentran en una gran variedad de bacterias ya sea pertenecientes a los grupos alfa, beta, gama como épsilon. El mecanismo de acción de HmuP es aún desconocido. El objetivo de este trabajo es evaluar si el mecanismo de acción de HmuP involucra al regulador RirA. Para ello se propone comparar la expresión de *shmR* en el contexto génico de una mutante *rirA* con respecto a su expresión en una doble mutante

hmuP, rirA. Si la función de HmuP (cuando el hierro intracelular es escaso), es levantar la represión ejercida por RirA, esperamos observar que *shmR* se expresa aún sin la presencia del activador HmuP en ausencia de RirA.

Para evaluar esta posibilidad, el gen *rirA* se interrumpió mediante la introducción de un cassette (*lacZ -Gm^r* proveniente del plásmido pAB2001), creando así la fusión transcripcional *rirA::lacZ*. La construcción obtenida se clonó en el vector pK18mobsacB el cual no es replicable en rizobio y posee un gen que le confiere al organismo que lo contiene, sensibilidad a la presencia de sacarosa. El plásmido fue luego introducido en la cepa *S. meliloti* 1021 salvaje y en la mutante *hmuP*. Se seleccionó el doble evento de recombinación el cual fue posteriormente confirmado por hibridación ADN-ADN. El fenotipo de las mutantes obtenidas se encuentra en estudio.

AT4_010 INDOLE-3-ACETIC ACID BIOSYNTHESIS AND *ipdC* GENE EXPRESSION BY *Azospirillum brasilense* AND ITS REGULATION BY AMINO ACIDS AND OTHER MOLECULES

*Cassán, Fabricio*¹; *Spaepen, Stijn*²; *Pierantonelli, María Belén*¹; *Molina, Romina*¹; *Vanderleyden, Jos*²

¹ Laboratorio de Fisiología Vegetal y de la Interacción planta-microorganismo. Departamento de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Rio Cuarto (Argentina); ² Centre of Microbial and Plant Genetics. Katholieke Universiteit Leuven. (Bélgica)
fcassan@exa.unrc.edu.ar

Indole-3-acetic acid (IAA) is one of the most important molecules produced by *Azospirillum* sp. during plant-bacteria interaction. Biochemical and genetic analysis of the IAA biosynthesis in *Azospirillum brasilense* revealed multiple pathways for IAA synthesis with the indole-3-pyruvate pathway being the most important. The key enzyme of this pathway is the indole-3-pyruvate decarboxylase, encoded by the *ipdC* gene. Our hypothesis states that bacterial growth, IAA biosynthesis and *ipdC* gene expression could be regulated by several amino acids in chemically defined medium. For that purpose, *A. brasilense* Sp245, Az39 and Cd pFAJ64 (*ipdC*-gus fusion) were pre-incubated at 30°C and 200 rpm orbital shaking in 250 ml flask containing 100 ml of MMAB medium with or without addition of 10 mg.l⁻¹ L-tryptophane or 10 μ g.ml⁻¹ IAA, until exponential or stationary growth phase, then fractionated in 10 ml glass tubes and individually supplemented with 10 mg.ml⁻¹ of L-lysine, L-tryptophane, L-leucine, L-isoleucine, L-phenylalanine, L-alanine, L-valine, L-arginine, L-glutamine, L-histidine, L-metionine, L-aspartate, L-cysteine, L-serine, L-proline or L-trreonine amino acids. After further incubation for 30, 120 and 240 minutes, the following parameters were evaluated: biomass production (OD₅₉₅); cellular viability (CFU.ml⁻¹); IAA production

(μ g.ml⁻¹) by HPLC and *ipdC* gene expression (Miller Units). All *Azospirillum brasilense* strains evaluated in this work and other complementary experiments showed the similar homeostasis pattern for IAA. No evidence for IAA conjugation, hydrolysis and/or catabolism were observed. On the other hand, a strong inhibitory effect on growth and IAA biosynthesis was observed for three strains by exposition of the cultures to several amino acids molecules. Our results show that L-valine, L-serine and L-isoleucine inhibiting bacterial growth and as a consequence affected the IAA biosynthesis, while L-leucine, L-phenylalanine and L-alanine were inhibitory on the IAA biosynthesis process itself. On the other hand, *ipdC* gene expression decreased in the presence of these amino acids, but increased by the addition of L-tryptophan and L-phenylalanine. Our results allow us to speculate about a novel tentative regulation mechanism for *Azospirillum* sp. IAA biosynthesis in rhizospheric conditions due to the presence of specific amino acids in root exudates.

AT4_011 HYDROLYSIS AND CATABOLISM OF AMIDE CONJUGATES OF INDOLE-3-ACETIC ACID (IAA-AA) AND OTHER RELATED AUXINS BY *Bradyrhizobium japonicum*

*Cassán, Fabricio*¹; *Spaepen, Stijn*²; *Molina, Romina*¹; *Pierantonelli, María Belén*¹; *Vanderleyden, Jos*²

¹ Laboratorio de Fisiología Vegetal y de la Interacción planta-microorganismo. Departamento de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Rio Cuarto (Argentina); ² Centre of Microbial and Plant Genetics. Katholieke Universiteit Leuven. (Bélgica)
fcassan@exa.unrc.edu.ar

Indole-3-acetic acid (IAA) is one of the most important molecules produced during *Bradyrhizobium japonicum*-soybean symbiosis. Several conjugates of IAA with amino acids (IAA-aa), such as, alanine, phenylalanine or leucine, had been previously described in plants and bacteria. Our hypothesis states that IAA-aa could be hydrolyzed and metabolized by *Bradyrhizobium japonicum* in chemically defined medium generating several changes on bacterial cell physiology. For that purpose, *B. japonicum* strain E109, the most used in South America for soybean seeds inoculation was pre-incubated at 30°C and 200 rpm orbital shaking in 250 ml flask containing 100 ml of YEM medium plus 10 mg.l⁻¹ L-trp until exponential growth phase, then fractionated in 5 ml aliquots into glass tubes and supplemented individually with 5 μ l of 10 mg.ml⁻¹ IAA-alanine; IAA-leucine or IAA-phenylalanine solutions. Control treatments were performed by adding equal concentrations of indole-3-acetic; indole-3-butyric (IAA and IBA); naphthalene acetic (NAA) and gibberellic acid (GA₃) or Zeatin (Z) solutions. Another group of treatments were performed by addition of 10 mM IAA plus 10 mg.l⁻¹ L-phenylalanine, L-leucine or L-alanine to evaluate the tentative IAA-aa conjugation. After incubation of 2, 4, 8, 12, 24, 48 hours the following parameters were evaluated: cell biomass (OD₅₉₅); cell viability (CFU.ml⁻¹); IAA and other related molecules concentration (μ g.ml⁻¹) by HPLC. All treatments and experiments were performed in triplicates. The IAA homeostasis pattern in *Bradyrhizobium japonicum* E109 was evaluated in this work. No evidence for IAA conjugation was observed; however a strong catabolic activity was observed in all treatments with exogenous addition or endogenous production of auxins. About the hydrolysis of IAA conjugated with amino acids (IAA-amides), we found that *B. japonicum* had variable capacity to hydrolyze IAA-leucine, IAA-phenylalanine and IAA-alanine to free IAA, but this molecule was quickly and strongly catabolized. Both, exogenous or hydrolyzed IAA molecules induced some physiological changes in bacterial biomass production, compared with controls without induction. This particular effect of bradyrhizobia cells seems to be not specific for other auxins or phytohormones molecules because IBA, NAA or GA₃ didn't produce any change on bacterial growth as free IAA; however all auxins were strongly catabolized by bacteria in culture medium. Those results allow us to speculate about a new tentative role for IAA as a plant signal for bacteria growth during soybean-bradyrhizobia interaction.

AT4_012 POTENTIAL FOR PLANT GROWTH PROMOTION OF DIAZOTROPHIC BACTERIA ISOLATED FROM ANNUAL RYEGRASS

*Castanheira, Nádia L.*¹; *Fareleira, Paula*¹

¹ INIA/ Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., Av. da República, 2784-505 Oeiras, Portugal and Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Av. da República, Apartado 127, 2780-157 Oeiras (Portugal)
nadia.castanheira@itqb.unl.pt

The use of plant-beneficial microorganisms is emerging as an important component of the integrated nutrient supply system of several important agronomic crops. Plant-growth promoting microbes may colonize the root-adherent soil fraction, the surface of the root, or the plant internal tissues, and participate in many key processes, such as nutrient cycling and availability, seedling establishment, or biological control of plant pathogens. Besides nitrogen fixation, which may be accomplished by several soil microbes associated to non-legume plants, some of these microorganisms have other important functions, such as solubilization of mineral phosphate, hydrolysis of plant

polymers, production of phytohormones, or formation of siderophores. Recently, we isolated a collection of malate-utilizing microaerophilic diazotrophs associated to annual ryegrass (*Lolium multiflorum*), a forage crop that is extensively used in poor-productive areas in southern Portugal and that requires considerable amounts of mineral fertilizers in order to achieve maximum production yields. The collection comprises bacterial isolates originated from both the root external environment (rhizospheric soil and root external surface) and plant tissues (roots, stems and leaves). In order to evaluate their potential for plant growth promotion, these isolates were tested for *in vitro* auxin production, solubilization of mineral phosphate, and hydrolysis of plant polymers. The aim was to identify the most promising strains for subsequent plant inoculation assays. *In vitro* auxin production was measured as indole acetic acid equivalents in culture supernatants. Mineral phosphate solubilization was assayed in Pikovskaya agar plates, by observing the formation of transparent halos around colonies. Cellulase activity was assayed in NFB agar plates supplemented with tryptone and carboxymethylcellulose. Pectinase activity was tested in TY agar supplemented with pectin. Most isolates, either originated from rhizospheric environments and plant tissues, were able to accomplish at least one of these activities. Within the set of isolates, approximately 15% were able to produce indole acetic acid, 30% were capable to hydrolyze mineral phosphate, 20% presented cellulase activity, and 20% could hydrolyze pectin. Several of them were able to perform multiple functions related with plant-growth promotion, thus presenting increased interest for further testing in *Lolium multiflorum* growth assays. This work was supported by project PTDC/AGR-AAM/100577/2008, Fundação para a Ciência e a Tecnologia, MCTES, Portugal. N.L. Castanheira is granted by Fundação para a Ciência e a Tecnologia, MCTES, Portugal (SFRH/BD/69185/2010).

AT4_013 IDENTIFICACIÓN Y EFECTO BIOLÓGICO DE ACIL-HOMOSERIN LACTONAS PRODUCIDAS POR BACTERIAS NODULANTES DE MANÍ

Nievas, Fiorela L¹; Bogino, Pablo C¹; Sorroche, Fernando G¹; Dardanelli, Marta S¹; Giordano, Walter F¹

¹ Dpto. Biología Molecular, Facultad de Cs. Exactas, Fco-Qceas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina)

mdardanelli@exa.unrc.edu.ar

Maní (*Arachis hypogaea* L.) es una leguminosa de importancia agroindustrial cuyo principal simbionte pertenece a cepas de *Bradyrhizobium*. El Quórum Sensing (QS) es un mecanismo de señalización bacteriana dependiente de la densidad poblacional que sirve para regular diversos procesos fisiológicos tales como movilidad, formación de biofilms, producción de antibióticos, entre otros. El funcionamiento de este sistema depende de la producción de moléculas llamadas *autoinductores*. Las acil-homoserin lactonas (AHLs) son el tipo de moléculas señal más utilizada por bacterias Gram negativas. Existen numerosas evidencias que demuestran la producción de moléculas sensoras de QS por cepas de rizobios. Sin embargo, el conocimiento acerca de los mecanismos de comunicación entre bradirizobios de maní es escaso. En función de tales antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue identificar y caracterizar moléculas autoinductoras producidas por cepas nodulantes de maní y evaluar su participación en diferentes actividades biológicas. La detección de la producción de AHLs fue realizada mediante la utilización de dos sistemas bioindicadores, *Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (pZLR4) (para AHLs de cadena larga) y *Chromobacterium violaceum* CV026 (para AHLs de cadena corta). De 53 cepas estudiadas, 14 resultaron positivas para la detección de AHLs de cadena larga, no encontrándose cepas productoras de AHLs de cadena corta. Mediante determinación de la actividad β-galactosidasa se agrupó a las cepas productoras de AHLs en grupos de alta, moderada y baja producción de AHLs. Posteriormente se procedió al aislamiento e identificación de AHLs por HPLC-MS. En los extractos de cepas productoras se encontraron al menos 4 tipos diferentes de AHLs correspondientes a una longitud de cadena de C6 y a los derivados hidroxilados C10, C12 y C14. A los fines de evaluar el rol de estas moléculas en procesos bacterianos con impacto tanto en la nodulación como en la supervivencia en el suelo, se realizaron estudios de movilidad y de formación de biofilm. Ambos procesos fueron afectados positivamente por la adición de concentraciones crecientes de AHLs de cadena larga (C10, C12 y C14). Interesantemente, la máxima inducción se obtuvo hasta una concentración de 20 mM tanto para cepas productoras como para cepas no productoras de AHLs, indicando la capacidad de estas cepas de responder a autoinductores no propios. Finalmente se estudió la presencia de genes involucrados en la síntesis de AHLs, no obteniéndose resultados positivos en las amplificaciones por PCR con primers diseñados para tal fin. Otros abordajes deberán planificarse para profundizar en la mecanística molecular del proceso de QS en cepas de *Bradyrhizobium*. Los resultados obtenidos demuestran la existencia de mecanismos de comunicación bacteriana tipo QS para rizobios nodulantes de maní. Tales procesos son mediados por AHLs de cadena larga, las cuales parecen regular actividades fisiológicas tanto en cepas productoras como no productoras de las mismas.

AT4_015 PHENOTYPIC VARIATION IN *Azospirillum brasilense* SP7

Fibach-Paldi, Sharon¹; Volfson, Victoria¹; Matan, Ofra¹; Lerner, Anat¹; Castro-Sowinski, Susana²; Burdman, Saul¹; Okon, Yaacov¹

¹ The Hebrew University of Jerusalem (Uruguay); ² Universidad de la Republica, Uruguay (Uruguay)

okon@agri.huji.ac.il

Bacteria have developed mechanisms that allow them maintaining cell viability during stress and resuming growth when stress is removed from the environment. Among these mechanisms are adaptive mutations and phase variation, which are often associated with DNA rearrangements. *Azospirillum brasilense* is a Gram negative, nitrogen-fixing, plant growth-promoting rhizobacterium. Here we report phenotypic variants of *A. brasilense* Sp7 that were collected after exposure to temperature or starvation stresses, or formed randomly from growing bacteria at 30 °C in minimal or rich media. The phenotypic variants differed from their parental strains in several features, including pigmentation, exopolysaccharide (EPS) and lipopolysaccharide (LPS) amount and structure. Selected phenotypic variants overproducing EPS and showing different pigmentation were further characterized, by DNA fingerprinting methods like repetitive-PCR and pulse field gel electrophoresis. These analyses revealed that phenotypic variation in *A. brasilense* Sp7 was often associated with DNA rearrangements.

AT4_016 SISTEMAS DE ADQUISICIÓN DE HIERRO MEDIADOS POR CITRATO FÉRRICO EN *Herbaspirillum seropedicae* Z67

Trovero, Fernanda¹; Rosconi, Federico¹; Fabiano, Elena¹

¹ Laboratorio de Bioquímica y Genómica Microbianas, IIBCE, Montevideo, Uruguay (Uruguay)

mafertro@gmail.com

Las bacterias endófitas son microorganismos mutualistas que se encuentran dentro de la planta sin causarle daños aparentes. Pueden ser aislados de plantas esterilizadas superficialmente y poseen la capacidad de reinfectar plántulas hospederas. Entre los endófitos, algunas cepas del género *Herbaspirillum* han demostrado un gran potencial como promotores de crecimiento vegetal. En particular, la cepa Z67 de *Herbaspirillum seropedicae* es considerada una cepa modelo en el estudio de endófitos. Se trata de una Beta-Proteobacteria diazotrófica que coloniza gramíneas, como ser el arroz. Al igual que la mayoría de los seres vivos, necesita hierro para mantener sus funciones vitales. En condiciones de pH cercanas a la neutralidad y ambientes aerobios, la disponibilidad del metal se ve limitada, lo que ha forzado a los organismos, y en particular a las bacterias, a desarrollar sistemas altamente eficientes para su captación. Uno de estos sistemas, bien conocido y estudiado en *Escherichia coli*, consiste en el transporte de alta afinidad del citrato férrico. En esta bacteria, el complejo citrato-ión férrico es reconocido específicamente por una proteína de membrana externa, FecA, la cual activa una señalización transmembrana que finalmente lleva a la inducción de un sistema de transporte específico para el citrato férrico, donde participan las proteínas codificadas por los genes del operón *fecABCDE*. Si bien se conoce la importancia que tiene el hierro para las bacterias endófitas, poco se sabe de los sistemas que éstas utilizan para su captación dentro y fuera de la planta. Teniendo en cuenta que dentro de la planta el hierro puede ser transportado como citrato férrico, nos propusimos como objetivo evaluar su uso como fuente de hierro nutricional en la cepa *H. seropedicae* Z67. Con tal finalidad, realizamos diferentes ensayos fisiológicos: bioensayos, crecimientos en medio sólido y en medio líquido bajo distintas condiciones de disponibilidad de hierro y en presencia de citrato férrico como única fuente de hierro. En base a los resultados obtenidos demostramos que *H. seropedicae* Z67 puede utilizar este compuesto como fuente de hierro nutricional. Mediante análisis *in silico* del genoma de la cepa secuenciada de *H. seropedicae* (SmR1) identificamos dos genes anotados como probables *fecA* (GeneID: 9401878 y GeneID: 9403212). Al realizar un análisis de las secuencias disponibles, observamos que sólo uno de ellos (GeneID: 9401878) es homólogo al gen *fecA* de *E. coli* (GeneID: 946427), presentando un 42% de identidad. El otro gen anotado como *fecA* tiene solamente un 22% de identidad con el gen de *E. coli*. Mediante análisis de MALDI TOF de proteínas de membrana externa expresadas en cultivos de *H. seropedicae* Z67 crecidos en medios con baja disponibilidad de hierro, se identificó únicamente al gen homólogo al de *E. coli*. Actualmente estamos construyendo una mutación dirigida al gen *fecA* (GeneID: 9401878) de *H. seropedicae* Z67, de forma de evaluar su participación en la captación de citrato férrico y en la asociación con las plantas hospederas.

AT5_006 **PROTEOMIC ANALYSIS OF HEAT STRESS IN *Rhizobium tropici* PRF 81**

Gomes, Douglas F.¹; Batista, Jesiane S.S.²; Andrade, Diva S.³; Hungria, Mariangela⁴

¹ UFPR-Embrapa Soja (Brasil); ² UEL-Embrapa Soja (Brasil); ³ Iapar (Brasil); ⁴ Embrapa Soja (Brasil)
micro_jesi@yahoo.com.br

Common bean (*Phaseolus vulgaris*) is the most important food legume in South and Central America and in many countries of Africa and Asia. The legume can establish symbiotic relationships with a variety of rhizobial species. An important limitation to the biological nitrogen fixation process involving common bean is the high genetic instability of the rhizobial strains. *Rhizobium tropici* strain PRF 81 (= SEMIA 4080) has been used in commercial inoculants for application to common-bean crops in Brazil since 1998, due to its high efficiency in fixing nitrogen, competitiveness against indigenous rhizobial populations and capacity to adapt to stressful tropical conditions, representing a key alternative to application of N-fertilizers. In this context, the objective of our study was to obtain an overview of adaptive responses to heat stress of strain PRF 81. Bacteria were cultured at 28°C and 35°C in TY medium, until exponential phase. Whole-cell proteins were extracted and 300 µg of protein were separated by two-dimensional electrophoresis. Protein spots showing significant changes in mean normalized volume were identified by mass spectrometry in a MALDI-TOF/TOF. Fifty-nine spots were identified by MALDI-TOF/TOF-TOF. Differentially expressed proteins were associated with metabolism, cellular processes and signaling, information storage and processing functional categories. Among the identified proteins, we can mention the response-regulator components NtrX and ChvL and the molecular chaperons DnaK and GroEL. We have also reported the up-regulation of proteins involved in oxidative stress response as thioredoxin, bacterioferritin and a peroxiredoxin protein. Finally, the results emphasized that the responses of *R. tropici* strain PRF 81 to heat stress goes beyond the induction of heat-shock proteins, including a crosstalk between oxidative and heat stresses.

AT5_007 **NATIVE STRAIN *P. fluorescens* SF4C PRODUCES A BACTERIOICIN THAT IS ACTIVE AGAINST PHYTOPATHOGENIC *Pseudomonas***

Fischer, Sonia¹; Godino, Agustina¹; Quesada Pérez, José Miquel²; Cordero, Paula¹; Jofre, Edgardo¹; Mori, Gladys¹; Espinosa Urgel, Manuel²

¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² Estación Experimental del Zaidin (España)
sfischer@exa.unrc.edu.ar

Pseudomonas fluorescens SF4c is a strain isolated from the rhizosphere of wheat grown in fields of Argentina. This strain promotes the growth of wheat and tomato under greenhouse conditions (Fischer *et al.*, 2007). Bacteria living in a competitive environment are able to secrete proteinaceous toxins, known as bacteriocins, which can kill closely related bacterial competitors while causing little harm to the bacteriocinogenic cells. On the other hand, bacteriocins have potential as biological control agents that can be used against bacterial pathogens (Parret *et al.*, 2005). *P. fluorescens* SF4c secretes a protease-resistant bacteriocin that kills *P. fluorescens* CTR 212 and phytopathogens of the genus *Pseudomonas* (*P. corrugata*, *P. syringae*). The production of this bacteriocin is enhanced by mitomycin C, a DNA-damaging agent, suggesting that SOS response is activated. Previously, mutants of strain SF4c impaired in bacteriocin production were generated by Tn5-B20 random mutagenesis in our lab. In one of these mutants, the transposon was inserted into a gene that has homology with a gene encoding "phage tail tape measure protein TP901" of *P. fluorescens* Pf0-1. This gene belongs to prophage 01 from strain Pf0-1, which is similar to the R2/F2 pyocin (phage like-bacteriocin from *P. aeruginosa* PA01) (Mavrodi *et al.*, 2009). We have named this gene *ptm* for Phage tail tape measure protein. Tn5-B20 insertion into *ptm* could have a polar effect on the expression of genes downstream from *ptm*. Therefore, we constructed a non-polar *ptm* mutant of *P. fluorescens* SF4. The clones obtained were checked by Southern hybridization, PCR, and sequencing to confirm replacement of *ptm* by *ptm::Km*. One of these clones was selected and named PTM50. This mutant did not present antibacterial activity against strains *P. fluorescens* CTR212. To elucidate the structure of high-molecular weight bacteriocin secreted by *P. fluorescens* SF4c, we purified the bacteriocin and performed transmission electron microscopy examination. This technique allowed visualization of particles resembling the bacteriophage tails in the culture supernatant of strain SF4c, confirming that this strain produced phage-like bacteriocin. Lytic system is necessary for a phage-like pyocin to be released from the cells. Genes encoding lytic system (*hol* and *lys*) are present in prophage 01 from *P. fluorescens* and pyocin from *P. aeruginosa* (Nakayama *et al.*, 2000; Mavrodi *et al.*, 2009). We demonstrated the presence of these genes in the genome of *P. fluorescens* SF4c. Finally, we analyzed the expression of pyocin under different condition through RT-PCR. Results show that UV light and hydrogen peroxide induce the expression of pyocin in *P. fluorescens* SF4c. Generally, bacteriocins are associated with bacterial competitiveness in the environment, but this topic is relatively unexplored. In the future, we will evaluate the ecology role of bacteriocin secreted by native strain *P. fluorescens* SF4c.

18:30 a 19:30

XXV RELAR y I MIPCV

Conferencia invitada

Mecanismos y potencial de uso de Azospirillum y otros PGPR de acción directa

Conferencista: Yaacov Okon (Israel)

CI_002 **PLANT GROWTH PROMOTION BY RHIZOSPHERE BACTERIA THROUGH DIRECT EFFECTS: MECHANISMS AND AGRONOMICAL USE.**

Okon, Yaacov¹

¹ The Hebrew University of Jerusalem (Uruguay)
okon@agri.huji.ac.il

Among the microorganisms inhabiting the rhizosphere, several are plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). Among PGPR species, some promote plant growth through direct effects on the plant, while other rhizosphere bacterial species benefit plant growth through reduction of damage caused by plant pathogens. Bacteria belonging to the *Azospirillum* genus, have been deeply investigated in terms of plant growth promotion mechanisms. Moreover, inoculants with *Azospirillum* strains have been developed and are being used in a commercial scale. Other PGPR with potential to promote crop yields include species from the *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* and *Paenibacillus* genera. Recent advances on the understanding of physiological properties of *A. brasilense* that have been shown to be important for rhizosphere performance and successful interactions with plant roots are presented. Properties of these bacteria that are associated with survival and fitness will be discussed.

Jueves 8

09:00 a 09:50

XXV RELAR y I MIPCV

Área Temática 5: Genómica y proteómica de microorganismos PCV

Coordinador: *Susana Castro*

Coordinador: *Elena Fabiano*

Structural phylogenomics and the evolution of proteins and proteomes

Conferencista: *Gustavo Caetano* (Estados Unidos)

El fenómeno de variación de fases en bacterias rizosféricas

Conferencista: *Susana Castro-Sowinski* (Uruguay)

AT5_001 STRUCTURAL PHYLOGENOMICS AND THE EVOLUTION OF PROTEINS AND PROTEOMES

*Caetano, Gustavo*¹

¹ University of Illinois (Estados Unidos)

AT5_002 EL FENOMENO DE VARIACION DE FASES EN BACTERIAS RIZOSFERICAS

*Castro-Sowinski, Susana*¹

¹ Unidad de Microbiología Molecular, IIBCE; Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias (Uruguay) scs@iibce.edu.uy

El término variación de fases se refiere al cambio aleatorio y reversible del fenotipo de algunas bacterias dentro de una población clonal. Este fenómeno se presenta a una frecuencia de 10-5 cambios por célula por generación, mayor a la determinada para las mutaciones. La variación de fases se manifiesta por el cambio en la expresión de proteínas (encendido y apagado de genes) en algunos clones de la población bacteriana. De esta forma, y dentro de una situación estrés (presión ambiental o por la presencia de un hospedero, entre otras), la bacteria expresa un fenotipo diferente que le confiere una ventaja adaptativa. Este fenómeno se explica por cambios genéticos y epigenéticos, tanto de regiones menores como mayores del genoma (inversión simple y anillada, o inserciones/delección de regiones de ADN, recombinación de homólogos silenciosos). La variación de fases se ha estudiado ampliamente en microorganismos patógenos, pero actualmente se reconoce como un fenómeno importante entre las bacterias rizosféricas, afectando la colonización de las raíces de las plantas hospederas, la actividad de biocontrol, la invasión, la expresión de exoenzimas y la producción de metabolitos secundarios. Algunos miembros de los géneros *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Acidovorax* y *Pseudomonas* están sujetos a este fenómeno. El rearrreglo de porciones del ADN de bacterias de estos género están involucrados en la aparición de variantes con cambios en la producción de pigmentos, en la motilidad, en la producción de exopolisacáridos y lipopolisacáridos, agregación celular, y la sobrevivencia, entre otros. En la mayoría de los casos, estas variantes se han explicado por la acción de recombinasas sitio-específicas. Durante esta presentación se expondrán los ejemplos más relevantes de variación de fases en algunos microorganismos rizosféricos. Agradecimientos: al Prof. Yaacov Okon, quien me introdujo en la temática de la variación de fases.

09:50 a 10:30

XXV RELAR y I MIPCV

Presentaciones orales AT5

AT5_003 GENISTEIN-INDUCTION EFFECTS IN PROTEIN EXPRESSION OF *Bradyrhizobium japonicum* STRAINS

*Batista, Jesiane S.S.*¹; *Gomes, Douglas F.*²; *Hungria, Mariangela*³

¹ UEL-Embrapa Soja (Brasil); ² UFPR-Embrapa Soja (Brasil); ³ Embrapa Soja (Brasil) micro_jesi@yahoo.com.br

Legume nodulation is a complex multi-step process that requires specific interactions between the symbionts, starting with the exchange of a variety of molecular signals between the host plant and the bacterium. Genistein is found in soybean seeds and root exudates that are primary inducers of nodulation genes of *B. japonicum*. However, it has been shown that the role of genistein can go beyond the expression of nodulation genes. We aimed at characterizing genistein-induced proteins of *Bradyrhizobium japonicum* CPAC 15 (=SEMIA 5079), used in commercial soybean inoculants in Brazil, and of two genetically related strains, S 370 and S 516, grown *in vitro*. Strains were grown

in the presence of 1 μM of genistein until exponential phase. Whole-cell proteins were extracted both from induced and from non-induced cultures of the three strains, and separated by two-dimensional electrophoresis. The experiment was done in triplicate, for each strain and condition analyzed. Spot profiles were compared between the two conditions and the ones which showed statistically significant variation in the relative volume were selected for MALDI-TOF/TOF identification. All the mass spectrometry data are available on PRIDE database (<http://www.ebi.ac.uk/pride>, accession number 9769). Strains CPAC 15, S 370 and S 516 are natural variants of the same parental strain SEMIA 566 and, therefore, are genetically highly similar, as reproduced in the 2DE profiles. Despite variations in spot volumes between the strains, the relative volumes (%vol), which are considered in differential expression analysis, were similar in all three strains for the great majority of the proteins. So, we demonstrate congruent results in relation to the genistein effects in the three strains analysed. Forty-seven cytoplasmic and periplasmic proteins were significantly induced, including several hypothetical proteins, substrate-binding ABC transporters components, the cytoplasmic flagellar component Flig, one protein related to biosynthesis of exopolysaccharides. Also noteworthy was the induction of the PhyR-σEcfG regulon; it was recognized that PhyR is a member of a signaling cascade, acting together with an extracytoplasmic function sigma-factor protein (σEcfG), involved in both general stress response and symbiotic efficiency. Although the PhyR/σEcfG regulatory system is not fully characterized, it may well act at the early stages of symbiosis development, revealing greater complexity and more features to the role of flavonoids released by the host plant. Our results confirm that the role of flavonoids, such as genistein, can go far beyond the expression of nodulation-related proteins in *B. japonicum*.

AT5_004 WHOLE TRANSCRIPTOME PROFILE OF *Herbaspirillum seropedicae* GROWN IN THE PRESENCE OF NARINGENIN

*Michelle, Tadra-Sfeir*¹; *Emanuel, Souza*¹; *Doumitt,*

*Camillos-Neto*¹; *Liziane, Brusamarello-Santos*¹;

*Helisson, Faoro*¹; *Vinicius, Weiss*¹; *Valter, Baura*¹; *Roseli,*

*Wassem*²; *Fábio, Pedrosa*¹; *Rose Adele, Monteiro*¹

¹ Department of Biochemistry and Molecular Biology, UFPR (Brasil); ² Department of Genetics, UFPR (Brasil)

souzaem@ufpr.br

Herbaspirillum seropedicae is a diazotrophic bacterium which associates endophytically with economically important *gramineae*. Flavonoids such as naringenin have been shown to have an effect on the interaction between *H. seropedicae* and its host plants. Genes involved with the synthesis of exopolysaccharides, lipopolysaccharides and indolacetic acid are regulated by naringenin and are critical for this interaction. Here we used a high-throughput sequencing based method (RNA-Seq) using the next-generation sequencer SOLiD to access the influence of naringenin on the whole transcriptome profile of *H. seropedicae*. Total RNA was extracted from cells grown in the absence (control) and presence of naringenin (100 μmol/L). A total of 66 million reads of the control sample and 48 million of the test sample were obtained and, out of these, 50 million and 37 million reads in the control and test samples, respectively, were mapped to the bacteria genome. Data analysis confirmed that genes involved in the synthesis of exopolysaccharides (*epsG*) and biosynthesis of indolacetic acid (indolepyruvate ferredoxin oxidoreductase) are regulated by naringenin. Moreover, genes involved in aromatic metabolism such as *pcaJ* and *paaK* are strongly upregulated by naringenin. Financial support: INCT-FBN/CNPq.

AT5_005 SISTEMAS DE CAPTACIÓN DE HIERRO MEDIADOS POR SIDERÓFOROS EN EL ENDÓFITO DE GRAMÍNEAS *Herbaspirillum seropedicae* Z67

*Rosconi, Federico*¹; *de Souza, Emanuel*²; *Davyt, Danilo*³;

*Fabiano, Elena*¹

¹ Laboratorio de Bioquímica y Genómica Microbianas, IIBCE (Uruguay); ² Departamento de Bioquímica e Biología Molecular, UFPR (Brasil); ³ Cátedra de Química Farmacéutica, Facultad de Química, Udelar (Uruguay)

federh@iibce.edu.uy

Las bacterias endófitas pueden colonizar y sobrevivir en el interior de una planta sin que la misma presente síntomas visibles de enfermedad. Este grupo de bacterias es de interés biotecnológico debido a que pueden producir compuestos con usos medicinales e industriales, mejorar la fitorremediación, contribuir a la fertilidad del suelo y promover el crecimiento vegetal. En patógenos animales, los mecanismos de captación de hierro poseen una participación clave en las interacciones bacteria-hospedero. En fitopatógenos el papel de estos mecanismos resulta menos claro. En endófitos, su importancia es prácticamente desconocida.

Herbaspirillum seropedicae es un endófito perteneciente a la subclase β de las Proteobacterias. Coloniza y sobrevive en el interior de diversas gramíneas de interés agronómico como el arroz, sorgo, trigo, maíz y caña de azúcar. Es un organismo capaz de fijar nitrógeno atmosférico y se ha demostrado que los genes estructurales de la

enzima responsable de dicho proceso, la nitrogenasa, son expresados en el interior de las plantas que coloniza. Asimismo, la actividad y expresión de la nitrogenasa responden a la disponibilidad de hierro.

Nuestro objetivo es identificar los mecanismos de adquisición de hierro en la cepa *H. seropedicae* Z67 mediados por sideróforos y establecer la función de dichos mecanismos en bacterias endófitas en vida libre y asociadas a la planta. Los sideróforos son moléculas orgánicas de bajo peso molecular producidos por las bacterias en condiciones limitantes en hierro. Estas moléculas se unen el ion férrico (Fe^{+3}) con alta afinidad y transportan el metal al interior celular a través de receptores específicos.

En *H. seropedicae* Z67 encontramos que un gen con homología a las Non Ribosomal Peptide Synthases (NRPS) es esencial para la producción de sideróforos por esta bacteria. Mediante análisis in silico de la secuencia aminoacídica codificada por este gen, ensayos de LC/MS-MS, GC-MS y RMN, identificamos la estructura química del sideróforo producido por esta bacteria. Se trata de un grupo de 3 moléculas análogas lipopeptídicas que comparten un mismo core de aminoácidos y difieren en el largo de cadena del ácido graso N-terminal. Denominamos a estos sideróforos como serobactina A, B y C. Observamos que dos ORFs, presentes en la región genómica del gen codificante de la NRPS, eran homólogos a receptores de membrana externa para sideróforos (*cirA* y *fhuA*) y que poseen un 63% de identidad entre ellos. Mediante análisis proteómico de fracciones de membrana externa se identificó sólo el producto del gen *fhuA*. Construimos mutantes de ambos ORFs y actualmente estamos caracterizando el fenotipo de ambos.

Agradecimientos: PEDECIBA. ANIL. Projeto Prosul, CNPq. Rosario Durán, UByPA, IPmont, Juan Andrés Abin, Marcela Martínez, Departamento de Neuroquímica, IIBCE.

10:30 a 11:00

Pausa

11:00 a 11:30

XXV RELAR y I MIPCV

Conferencia invitada

Participatory assessment of phosphorus bio-availability in legume rhizosphere with recombinant inbred lines of common-bean contrasting in phosphorus use efficiency for nitrogen fixation

Conferencista: *J.J. Drevon* (Francia)

CI_003 PARTICIPATORY ASSESSMENT OF PHOSPHORUS BIO-AVAILABILITY IN LEGUME RHIZOSPHERE WITH RECOMBINANT INBRED LINES OF COMMON-BEAN CONTRASTING IN PHOSPHORUS USE EFFICIENCY FOR NITROGEN FIXATION

Jean-Jacques, DREVON¹

¹ INRA (Francia)

drevonjj@supagro.inra.fr

Symbiotic nitrogen fixation by legumes that already contributes a major input into natural ecosystems, may provide an ecologically acceptable complement or substitute to N fertilization that farmers in most developed countries are recommended to minimize for environmental sake, and farmers in less-developed agricultural areas cannot apply for economic cost. However, P deficiency is a major limiting factor of the legume growth where its N nutrition largely depends upon the rhizobial symbiosis. The aim of this study was to assess whether P use efficiency for symbiotic nitrogen fixation could contribute to legume adaptation to low-P soils. Common-bean recombinant inbred lines most contrasting for this P use efficiency for symbiotic nitrogen fixation were initially selected in glasshouse hydro-aeroponic culture. In this work, they were submitted to multi-site participatory field-testing for measurements of their nodulation and growth in cereal-legume systems of a Mediterranean area. Soil P availability was measured as Olsen P, and P bio-availability by plant P accumulation. In many sites, nodulation was found to be inhibited by an excess of N mineralization from mineral or organic fertilization. In other sites, a positive correlation was generally observed between nodule biomass and shoot growth at flowering stage, whenever the mean nodule mass per plant was above 40 mg DW pl^{-1} . The increase in nodule biomass per plant was generally higher for the most efficient line, and associated with an increase in bio-available P in the soil surrounding the nodulated-roots. Screening in hydro-aeroponic culture maximizing the rhizobial symbiosis under highly controlled P supply in controlled environment, is an innovative approach to select for the use of P by nodulated legumes, i.e. the internal strategy. It could complement to approaches that are focused on the acquisition of P, i.e. the external strategy.

11:30 a 13:00

Reunión ALAR

Reunión ALAR

13:00 a 14:30

Almuerzo

14:30 a 15:20

XXV RELAR y I MIPCV

Área Temática 6: Taxonomía, biodiversidad y ecología de microorganismos PCV

Coordinador: *Lina Bettucci*

Coordinador: *Ana Fernandez*

Diversidade, ecologia e eficiência de bactérias promotoras de crescimento vegetal

Conferencista: *Fatima Moreira* (Brasil)

Diversidade de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) em Ecossistemas Agrícolas e Naturais

Conferencista: *Sidney Luiz Sturmer* (Brasil)

AT6_001 DIVERSIDADE, ECOLOGIA E EFICIÊNCIA DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

Moreira, Fatima¹

¹ Universidade Federal de Lavras (Brasil)

fmoreira@dcs.ufla.br

Estirpes de bactérias do gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* e *Cupriavidus*, isoladas de diversas classes de solos sob diferentes ecossistemas brasileiros, apresentam grande diversidade fenotípica, genotípica e simbiótica. Como estas bactérias foram isoladas de condições onde não houve introdução de estirpes pelo uso de inoculantes, presume-se que são nativas.

Várias estirpes selecionadas de *Bradyrhizobium* são hoje aprovadas como inoculantes no Brasil para espécies de grãos, florestais, adubação verde e forrageiras. As estirpes UFLA 3-84 e INPA 3-11B, isoladas da Amazônia (respectivamente de *Vigna unguiculata* e *Centrosema* sp.) são aprovadas pelo MAPA como inoculante para feijão caupi (*Vigna unguiculata*). Essas estirpes tem apresentando bons resultados em experimentos conduzidos em diversas regiões do país (Norte, Nordeste, Sudeste e Centro). As duas estirpes apresentam um amplo espectro de tolerância a antibióticos (tolerância aos 15 testados) e são tolerantes a altas temperaturas, o que deve contribuir para sua boa performance em experimentos no campo. A UFLA 3-84 também tem alta capacidade de solubilizar fosfato de Ca e de Al. Já a estirpe INPA 3-11B também nodula eficientemente a soja, o que contradiz relatos prévios de que *Bradyrhizobium* foi introduzido em solo brasileiro junto com a soja nos anos 70 e/ou que *Bradyrhizobium* nativo é ineficiente em soja. Além disso, estirpes de *Bradyrhizobium* tem sido isoladas de diversas espécies em ecossistemas florestais. Estas estirpes variam com relação às suas características simbióticas tanto com relação a nodulação como relação a eficiência não só em soja, mas também em siratro e caupi.

Com relação à *Phaseolus vulgaris* existe o dogma que as estirpes inoculantes devem se restringir a *Rhizobium tropici*, considerando que esta espécie é tolerante a acidez e temperaturas elevadas e que é estável geneticamente. No entanto, nem todas as estirpes de *Rhizobium tropici* tem este comportamento com relação à acidez e a temperatura. E embora a estirpe CIAT 899 venha apresentando ótimos resultados em relação ao aumento de produtividade em solos ácidos brasileiros, estirpes selecionadas, pertencentes a outras espécies de *Rhizobium* são tolerantes a acidez e alumínio, até em níveis superiores aos da CIAT 899 e também estão tendo bons resultados no campo. A CIAT 899 e outras estirpes eficientes em feijão também são capazes de solubilizar fosfato de Ca e de Al. A predominância de *Rhizobium tropici* em solos tropicais também não tem sido corroborada por levantamentos recentes que utilizam técnicas moleculares para identificação das espécies.

Azorhizobium doebereineriae estabelece uma simbiose muito eficiente e específica com *Sesbania virgata*. Todas as estirpes isoladas desta espécie são bastante eficientes e certamente qualquer uma pode ser usada como inoculante para esta espécie. Levantamentos em áreas de dispersão natural de *S. virgata* indicam que ela estimula a ocorrência de seu microsimbionte mas não inibe a ocorrência de várias espécies outros simbiotes próximo a seu sistema radicular. Dentre estes, encontramos *Cupriavidus* sp., cujas características culturais em meio 79 são muito similares a de *A. doebereineriae*. Estas estirpes foram isoladas de Mimosoideae e Papilionoideae e mostram tolerância elevada a metais pesados.

AT6_002 DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMAS) EM ECOSISTEMAS AGRICOLAS E NATURAIS

Sturmer, Sidney Luiz¹; Siqueira, José Oswaldo²
¹ Universidade Regional de Blumenau (Brasil); ² Universidade Federal de Lavras (Brasil)
sturmer@furb.br

Nos ecossistemas terrestres, a associação endomicorrízica arbuscular representa uma das mais disseminadas e importantes simbioses mutualísticas estabelecidas entre plantas e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), os quais auxiliam na nutrição mineral das plantas e na estruturação do solo. O objetivo deste trabalho é apresentar o estado da arte do inventário brasileiro das espécies de FMAs. Publicações científicas que apareceram em periódicos nacionais e internacionais entre os anos de 1983 e 2011 foram analisadas em relação as espécies de FMAs encontradas. Os estudos de ocorrência incluem Agroecossistemas (culturas anuais, fruteiras), plantações de café e áreas degradadas por metais pesados e seis ecossistemas naturais: Dunas, Floresta Atlântica, Floresta Amazônica, Floresta de *Araucaria*, Cerrado e Caatinga. Um total de 90 espécies de FMAs tem sido identificadas em nível de espécie. A maioria dos estudos foi feita na região Sudeste do país e apenas oito estudos foram feitos na região Sul. Os Agroecossistemas apresentaram uma alta diversidade de FMAs comparativamente aos outros ecossistemas, o que pode ser explicado pelo alto número de estudos realizados nesses sistemas. Uma alta proporção de espécies não descritas também representa parte da diversidade de FMAs em ecossistemas brasileiros. Em plantações de café e dunas marítimas, 26% e 21% das espécies de FMAs foram identificadas apenas em nível de gênero, respectivamente. As plantações de café e cerrado obtiveram o maior número médio de espécies de FMAs recuperadas por estudo, 22 e 27, respectivamente seguidas pela Floresta Atlântica e Agroecossistemas. Os dados de frequência de ocorrência revelam que *Acaulospora scrobiculata* é o fungo mais frequentemente recuperado nos ecossistemas brasileiros seguido por *Acaulospora spinosa*, *Glomus etunicatum*, *Scutellospora pellucida*, *A. morrowiae* e *Gigaspora margarita*. A estrutura das comunidades de FMAs demonstrou a dominância, em termos de esporulação, de 2-3 espécies, as quais em conjunto, contribuíram para 50% a 96% do total de esporos produzidos. Considerando as seis espécies mais comuns de FMAs detectadas em cada estudo, nenhuma predição pode ser feita sobre a distribuição de uma dada espécie num determinado ecossistema. Pesquisas sistemáticas têm que ser desenvolvidas para amostras regiões geográficas no Brasil que representem importantes biomas tais como a Floresta Amazônica e Pantanal. Os ecossistemas brasileiros constituem uma importante fonte de diversidade de FMAs, merecendo estudos posteriores e uma política definida para a conservação dessa diversidade taxonômica e genética.

15:20 a 16:00

XXV RELAR y I MIPCV

Presentaciones orales AT6

AT6_003 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE AGROQUÍMICOS SOBRE LA ABUNDANCIA Y DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS DIAZÓTROFOS EN EL ÁREA MANISERA DE CÓRDOBA

Angelini, Jorge¹; Ghio, Silvina¹; Taurian, Tania¹; Fabra, Adriana¹
¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina)
jangelini@exa.unrc.edu.ar

Las poblaciones de microorganismos que habitan el suelo en el cual se desarrollan los cultivos agrícolas y la rizósfera, están sujetas a diversos factores que influyen en su densidad, composición y actividad. Entre estos eventos, se incluyen tratamientos agrícolas que pueden producir efectos directos o indirectos en las comunidades microbianas y en sus interacciones con los cultivos. Las altas tasas de fertilizantes inorgánicos y pesticidas no sólo pueden causar daños en el hábitat, sino que también pueden provocar cambios en las densidades de bacterias y hongos del suelo, promoviendo o suprimiendo, el crecimiento y la actividad microbiana y generando cambios detectables en la estructura poblacional del suelo.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la aplicación de agroquímicos sobre la diversidad de las comunidad de bacterias fijadoras de nitrógeno presente en un suelo cultivado con maní.

Los experimentos se realizaron en microcosmos a los cuales se les aplicó: el Insecticida Lambdaclorotrina (25 ml ha⁻¹), los fungicidas: Azoxistrobina y Difenconazole (11 ha⁻¹) y los herbicidas Glifosato (25 l ha⁻¹), Diclosulam (20 g ha⁻¹), Imazapic (85 g ha⁻¹), Imazetapir (11 ha⁻¹), S-metolacoloro (11 ha⁻¹). Las muestras de suelo se tomaron antes y después de la aplicación de agroquímicos. La abundancia de diazotrofos de vida libre se determinó por el número de colonias que crecieron en el medio NFB (Döbereiner, 1980), la diversidad se determinó mediante el análisis de una librería genómica del gen *nifH* el cual fue amplificado por PCR a partir de muestras de ADN extraído de suelo. La actividad nitrogenasa del suelo fue determinada según la metodología descrita por Ingrid Rocío Caton (2007).

El presente trabajo permitió demostrar que en suelos maniseros de la provincia de Córdoba sometidos a los herbicidas imazapic, S-metolacoloro y Diclosulam, así como al insecticida lambdaclorotrina se produce un impacto negativo sobre los microorganismos diazotrofos cultivables, observándose una alteración en su número y diversidad.

El contenido de nitrógeno en suelos controles fue aproximadamente de 200 fmol N₂ reducido g⁻¹suelo h⁻¹ y en los suelos tratados de 50 fmol N₂ reducido g⁻¹suelo h⁻¹. Se observó una reducción del 34% en la cantidad de nitrógeno fijado en los suelos a los que se aplicó los herbicidas Imazapic, Imazetapir, S-metolacoloro y Diclosulam y el insecticida Lambdaclorotrina. Dicha reducción podría relacionarse con la disminución en el número de diazotrofos observada cuando se aplicaron las mezclas de fitosanitarios.

Financiado por SECYT-UNRC, CONICET, MinCyt.

AT6_004 IDENTIFICACIÓN RÁPIDA MEDIANTE MALDI-TOF-MS DE BACTERIAS QUE NODULAN *Trifolium repens*.

Rivera, Lina P¹; Ramírez-Bahena, Helena²; Ferreira, Laura³; Menéndez, Esther¹; González-Buitrago, Jose M³; Velázquez, Encarna¹; Martínez-Molina, Eustoquio¹; Mateos, Pedro F¹

¹ Departamento de Microbiología y Genética, CIALE, Universidad de Salamanca (España); ² IRNASA, CSIC, Salamanca (España); ³ Laboratorio de Proteómica, Unidad de Investigación, Hospital Clínico de Salamanca (España)
lpr@usal.es

La Familia *Rhizobiaceae* está compuesta por tres géneros (*Rhizobium*, *Ensifer* y *Shinella*) que contienen especies patógenas, simbióticas y saprofitas. Actualmente la correcta identificación de estas bacterias no es posible utilizando ensayos clásicos basados en pruebas fisiológicas o bioquímicas. Por este motivo hemos puesto a punto un método alternativo (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF-MS) que nos permite la correcta identificación de los miembros de la Familia *Rhizobiaceae*. Debido a su rapidez, este método se ha mostrado bastante útil en la identificación de microorganismos en muestras clínicas, laboratorios forenses y en estudios antropológicos entre otros (Petkosvski *et al.*, 2005). Otra ventaja que muestra es la posibilidad de realizar numerosas identificaciones al mismo tiempo lo que resulta muy útil en estudios ecológicos. Para hacer operativo este método en la identificación de la Familia *Rhizobiaceae* hemos construido una base de datos que incluye las cepas tipo de las especies descritas de los géneros *Rhizobium*, *Ensifer* (*Sinorhizobium*) y *Shinella* (Ferreira *et al.*, 2011). Una vez puesto a punto y validado este método estamos realizando la identificación de un gran número de cepas aisladas del interior de nódulos. En este trabajo presentamos los resultados obtenidos al aplicar el Maldi-TOF-MS en la identificación de cepas aisladas del interior de nódulos de *Trifolium repens*. Estos aislados mostraron diferencias tanto en la producción de celulosa bacteriana como en la formación de biofilms por lo que decidimos amplificar el gen que codifica para la celulasa CelC2, debido a que los genes que codifican para esta endoglucanasa están localizados en una región del cromosoma denominada *celABC* implicada en la biosíntesis de celulosa. Esta celulasa es una 1,4-β-D-endoglucanasa implicada en la infección de *Rhizobium* en trébol (Robledo *et al.*, 2008). Por último hemos analizado la relación existente entre la producción de celulosa bacteriana y la formación de biofilms.

AT6_005 CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA DE *Phyllobacterium sp.* AISLADA DE NÓDULOS *Lotus corniculatus*

Sánchez Torterolo, Máximo¹; Irisarri, Pilar¹; Sanjuán, Juan²; Monza, Jorge¹

¹ Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay (Uruguay); ² Departamento Microbiología de Suelo y Sistema Simbióticos, España. (España)
msanchez@fagro.edu.uy

A partir de una colecta de 169 aislados de nódulos de *Lotus corniculatus* en diferentes zonas del Uruguay, se identificaron por ERIC-PCR 105 perfiles únicos. Los 105 aislados fueron analizados por ARDRA y se secuenciaron 1460 pb del gen 16SARNr de aislados de cada ribogruppo. Esto permitió asignarlos al género *Mesorhizobium sp.*, con la excepción del aislado S658 que mostró 100% de similitud con la secuencia del 16SARNr de *Phyllobacterium sp.* y *Phyllobacterium trifolii*. El objetivo de este trabajo fue caracterizar este aislado a nivel genético y fenotípico. Para ello se analizaron las secuencias de los genes *housekeeping atpD*, *recA* y *glnII*. El fragmento amplificado de 530pb del gen *atpD* mostró 95% de similitud con el de *Phyllobacterium brassicacearum* mientras que el fragmento amplificado de 437pb del gen *recA* tuvo 88% de similitud con el de *Phyllobacterium sp.* Sin embargo el fragmento de 543pb del gen *glnII* mostró 81% de identidad con el de *Sinorhizobium sp.* Es interesante el hecho que: i) el fragmento de 1141pb de la secuencia intergénica 16SARNr - 23SARNr tuvo 100% de semejanza con el de *Mesorhizobium sp.*, ii) el fragmento de 580pb del gen simbiótico *nodD* tuvo 94% de similitud de con el de *Mesorhizobium loti* MAFF303099 (ahora *M. huakui*) y iii) el fragmento de 288pb del gen simbiótico *nifH* tuvo 93% de similitud con el de *Rhizobium leguminosarum*. Los ensayos de inoculación en

diferentes hospederos revelaron que S658 es capaz de producir nódulos eficientes a los 14 días en *L. corniculatus* e ineficientes a los 20 días en *L. uliginosus*. En *Lotus tenuis*, *Lotus japonicus*, *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* y *Trifolium polymorphum* S658 no produjo nódulos. Los estudios fenotípicos realizados con diferentes fuentes de carbono (Citrato, L-Serina, Succinato, Malato, Alanina), medios selectivos (LB, pH4, 2 y 3% NaCl) y diferentes temperaturas de crecimiento, mostraron que la cepa S658 se asemeja fenotípicamente a un miembro de la especie *Phyllobacterium bourgognense*. En *Lotus* no se habría encontrado hasta la fecha nódulos inducidos por bacterias del género *Phyllobacterium*.

16:00 a 16:30

Pausa

16:30 a 18:30

XXV RELAR y I MIPCV

Sesión de posters AT6

AT6_006 TAXONOMIA E FILOGENIA DE MICROSSIMBIOTES DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) COM O USO DA TÉCNICA DE MLSA (*Multilocus Sequence Analysis*)

*Ribeiro, Renan*¹; *Hungria, Mariangela*¹; *Rogel, Marco*²; *Lopez-Lopez, Aline*²; *Ormeño-Orrillo, Ernesto*²; *Martinez-Romero, Esperanza*²

¹ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Brasil); ² Centro de Ciencias Genómicas-Universidad Nacional Autónoma de México (México)
renanribeiro83@hotmail.com

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa que pode estabelecer uma relação simbiótica com algumas bactérias presentes no solo. Apesar da alta diversidade procariótica encontrada no solo, o grande desafio consiste em identificar e classificar um número cada vez maior de microrganismos, de modo que se consiga extrair ao máximo o potencial tecnológico dessas bactérias em favor do incremento no rendimento das culturas e na sustentabilidade da agricultura. Os estudos taxonômicos possuem um papel fundamental para a classificação dessa biodiversidade. Atualmente, a filogenia dos procariotos é baseada no gene 16S RNAr, embora alguns estudos tenham demonstrado algumas desvantagens no uso exclusivo desse gene. Com isso, a técnica de MLSA (*Multilocus Sequence Analysis*), que consiste na análise concatenada de pelo menos cinco genes conservados e que estejam presentes em todos os organismos em análise, vem sendo empregada para conferir maior confiabilidade em estudos taxonômicos e de filogenia. Neste estudo foram utilizadas quinze estirpes de rizóbios microssimbiontes do feijoeiro provenientes do México, Equador e Brasil, com o objetivo de identificá-las taxonomicamente através da técnica de MLSA. A análise dos cinco genes (*recA*, *rpoA*, *gltA*, *gyrB* e *glnII*), além do 16S RNAr indicaram a formação de três grupos distintos. Oito estirpes ficaram agrupadas com *R. etli* e *R. leguminosarum*, que por serem duas espécies intimamente relacionadas evolutivamente, só foram claramente separadas e identificadas na árvore concatenada com os cinco genes. Três estirpes agruparam com *R. tropici*, com nítida separação entre os grupos A e B, principalmente na árvore concatenada. Outras quatro estirpes foram posicionadas no grupo de *R. radiobacter*, mas pela grande distância evolutiva apresentada, podem ser representantes de uma nova espécie. A técnica de MLSA demonstrou ser uma ferramenta rápida e confiável para a identificação precisa e consistente dos isolados, quando comparada com a utilização de apenas um gene, principalmente dentro do grupo dos rizóbios.

AT6_007 LOS SUELOS CON HISTORIA DEL CULTIVO DE SOJA CONTIENEN CEPAS DE *Bradyrhizobium* QUE DIFIEREN EN SU CAPACIDAD PARA METABOLIZAR EL GLIFOSATO.

*Lopez, Silvina M.Y.*¹; *Pastorino, Graciela Noemí*²; *Balatti, Pedro Alberto*²

¹ Universidad Nacional de La Plata (Argentina); ² Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata (Argentina)
pbalatti@gmail.com

Glifosato [N-(fosfonometil) glicina] es un herbicida no selectivo de amplio espectro que inhibe la síntesis de aminoácidos aromáticos (Zablutowicz R. *et al.*, 2007; dos Santos J. *et al.*, 2005). Este suele aplicarse al cultivo de soja RR en post-emergencia y puede afectar a los simbioses de la soja por su efecto sobre la síntesis de aminoácidos, porque altera el balance energético o debido a la toxicidad de compuestos intermediarios de la ruta del shikímico. El glifosato es un herbicida que se ha demostrado puede actuar como fuente de fósforo (P) y/o carbono (C) para el crecimiento de los microorganismos del suelo, en particular algunas especies de la familia de las *Rhizobiaceae* aumentan su tasa de crecimiento en presencia de glifosato (Zablutowicz R. *et al.*, 2004; Liu C. *et al.*, 1991) En este estudio se comparan

los efectos de aplicar diferentes concentraciones de glifosato, sobre el desarrollo y crecimiento bacteriano de un conjunto de 10 cepas entre las que se incluyen como controles, *B. japonicum*, cepas E109 y SEMIA5080 y *B. elkanii*, cepa SEMIA587. Las otras 7 cepas que se incluyeron en el ensayo son bradyrhizobios que difieren en su capacidad de fijar N (4 *B. japonicum* y 3 *B. elkanii*) que provienen de suelos con historia del cultivo de soja. En este trabajo se evaluó el crecimiento de los aislamientos en medios líquidos suplementados con 114, 227 y 454 μ M del componente activo. Por otro lado se analizó el efecto de la aplicación foliar del herbicida, sobre la eficiencia de fijación de cada cepa. Este ensayo se realizó con plantas cultivadas en jarras de Leonard, a las que se les realizó aplicaciones foliares de glifosato a las 4 y 6 semanas posteriores a la inoculación. Los aislamientos respondieron de manera diferencial a la presencia de glifosato en el medio. Algunas estirpes crecieron a mayor velocidad que otras en presencia del herbicida en bajas concentraciones, lo que sugiere que el herbicida actuó al menos, en algunas cepas, como fuente de P y/o C. Cuando la dosis del herbicida suplementado al medio fue de 454 μ M, este provocó la inhibición del crecimiento de algunos aislamientos. Dos Santos *et al.*, 2005. *Crop Protection* 24 (2005) 543-547. Zoblutowicz *et al.*, 2004. *J. Environ. Qual.* 33 (2004) 825-831. Zoblutowicz *et al.*, 2007. *Crop Protection* 26 (2007) 370-376.

AT6_008 BIODIVERSIDAD DE SIMBIOTES DE *Desmanthus* SPP. EN LAS AMÉRICAS

*Beyhaut, Elena*¹; *Menna, Pamela*²; *Sicardi, Margarita*³; *Hungria, Mariangela*²

¹ INIA-Microbiología de suelos (Uruguay); ² Embrapa-Laboratorio de biotecnología do solo (Brasil); ³ Laboratorio de Microbiología del Suelo-IECA. Facultad de Ciencias UDELAR (Uruguay)
ebeyhaut@inia.org.uy

El género *Desmanthus* está formado por 24 especies, en su mayoría herbáceas perennes nativas del Nuevo Mundo, desde Uruguay y Argentina hasta el norte de los Estados Unidos. Algunas especies de este género atrajeron interés agronómico a partir de la década del setenta en Australia y Estados Unidos. A su vez, la colecta y preservación de *Desmanthus* nativos de Uruguay ha sido recomendada por presentar potencial como forrajeras. Debido a que la domesticación es reciente, el estudio del comportamiento simbiótico de *Desmanthus* spp. ofrece la posibilidad de explorar la biogeografía de sus rizobios asociados. Este estudio se centra en la caracterización de simbioses de *Desmanthus* nativos de Uruguay, y su comparación con los rizobios que establecen simbiosis efectivas con *Desmanthus* spp. en Norteamérica. Se conoce que estos últimos pertenecen a una única especie: *Rhizobium giardinii*. Se evaluó el rango de huéspedes, la diversidad mediante la comparación de los patrones de bandas obtenidos por Rep-PCR (BOX), el análisis conjunto de perfiles de RFLP de la región amplificada del 16S rARN, y la secuenciación de este mismo gen. Los resultados muestran que los rizobios asociados a *Desmanthus* en Uruguay pertenecen, al menos, a tres especies diferentes, sugiriendo diferente evolución en el norte y en el sur del continente americano. A su vez, resaltan el interés que presentan los agroecosistemas de bajos insumos -comunes en Uruguay- por su alta diversidad y potencial de prospección de germoplasma microbiano para diversos propósitos.

AT6_009 MULTILOCUS SEQUENCE ANALYSIS OF *Burkholderia* SPECIES: IS THERE A SINGLE GENUS?

*Estrada de los Santos, Paulina*¹; *Vinuesa, Pablo*¹; *Martinez Aguilar, Lourdes*¹; *M. Hirsch, Ann*²; *Caballero Mellado, Jesus*¹

¹ Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Ap. Postal 565-A. Cuernavaca, Morelos, México (México); ² Department of Molecular, Cell and Developmental Biology and Molecular Biology Institute, University of California-Los Angeles, 621 Charles E. Young Drive South, Los Angeles, CA 90095-1606, USA (Estados Unidos)
pestradadelossantos@gmail.com

Burkholderia comprises more than 60 species, which are distributed in diverse habitats. For example, several species are important components of the rhizosphere (1). Others have been found in water, plant roots or legume nodules, or can be pathogens to plants and humans, or opportunistic pathogens in humans). Besides the environmental and clinical importance, *Burkholderia* has biotechnological relevance, showing PGPR characteristics, among others features. Since the creation of *Burkholderia* in 1992 by Yabuuchi *et al.* (2), there has been an increasing number of species described, and some more are waiting to be described (Estrada-de los Santos, data not published; James pers. comm.). Phylogenetic analysis of 16S rRNA gene sequences has shown the clustering of two groups. Furthermore, phylogenetic analyses of *recA*, *gyrB*, *rpoB*, *acdS* gene sequences and genome sequence comparisons of different *Burkholderia* species has shown two major clusters of species, as well (3-9). Taking this evidence into account, a multilocus sequence analysis (MLSA) of a large set of type and reference strains of *Burkholderia* was carried out using *atpD*, *gltB*, *lepA* and *recA* genes in combination with the 16S rRNA gene sequence. The analysis was carried out under the maximum likelihood (ML) criterion. The phylogenetic analysis of the individual

genes and the concatenated sequences revealed two distinct evolutionary lineages within the *Burkholderia* genus with high supporting values. One group contains around 30 species, which are plant-associated and saprophytic bacterial species. The second group encloses the opportunistic human pathogen *B. cepacia* complex (BCC), the human and animal pathogen *B. pseudomallei* group, the plant pathogenic species. The 16S rRNA sequence dissimilarity between both groups was >4%. A recompilation of the G+C content from all *Burkholderia* species shows that the group of plant-associated and saprophytic species has an average of 62.9%, whereas the pathogenic group has 67.2%. These results suggest that *Burkholderia* genus does not represent a single genus but probably even more than two genera since the phylogenetic analysis also revealed that *B. andropogonis* and *B. rhizoxinica* are distinct from the two *Burkholderia* groups. Moreover, the G+C content for *B. andropogonis* is in the range of 59 to 61.3 and 60.7 to *B. rhizoxinica*. Interestingly, the group of plant-associated and saprophytic *Burkholderia* species is further divided in two clusters, which also suggests two different genera. However, more taxonomical studies need to be done to propose the splitting of *Burkholderia* genus. REFERENCES 1. Dalmastrì et al. 1999. Microb Ecol 38, 273-284. 2. Yabuuchi et al. 1992. Microbiol Immunol 36, 1251-1275. 3. Caballero-Mellado et al. 2004. Appl Environ Microbiol 54, 1165-1172. 4. Reis et al. 2004. Int J Syst Evol Microbiol 54, 2155-2162. 5. Perin et al. 2006. Int J Syst Evol Microbiol 56, 1931-1937. 6. Partida-Martínez et al. 2007. Int J Syst Evol Microbiol 57, 2583-2590. >7. Ait Tayeb et al. 2008. Res Microbiol 159, 169-177. 8. Onofre-Lemus et al. 2009. Appl Environ Microbiol 75, 6581-6590. >9. Vanlaere et al. 2008. Int J Syst Evol Microbiol 58, 420-423.

AT6_010 ISOLATION OF DIAZOTROPHIC BACTERIA ASSOCIATED TO ANNUAL RYEGRASS

Fareleira, Paula¹; Castanheira, Nádia L.^{1,2}; Delgado Rodríguez, Ana Isabel¹; Ferreira, Eugénio¹; Dourado, Ana Catarina³; Alves, Paula I.^{2,3}; Barreto Crespo, M. Teresa^{2,3}
¹ INIA/ Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P. Av. da República, 2784-505 Oeiras, Portugal (Portugal); ² Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa and Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Oeiras, Portugal (Portugal); ³ Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica, Oeiras, Portugal (Portugal)
paula.fareleira@inrb.pt

Large areas in southern Portugal are dedicated to "montado" (or "dehesa"), a typically Mediterranean agro-forestry-pastoral ecosystem adapted to poor productive areas, where the exploitation of cork oak and holm oak is often associated to extensive cultivation of fodder crops such as ryegrass. Annual ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) is a cool season annual bunchgrass with high palatability and digestibility, which make it highly valued for forage and livestock systems. It is also suited for soil conservation uses, as plants develop extensive, fibrous, and shallow root systems that can contribute to impair soil erosion. Ryegrass is highly responsive to nitrogen fertilization, and recommended rates can reach 100kg N/ha. However, the needs for fertilization can be considerably lowered by the combined use with legumes, mainly due to their nitrogen-fixing contribution. The question remains whether the same might be achieved throughout inoculation with either free-living or endophytic diazotrophs that could directly supply the plant with biologically fixed nitrogen. Our previous results indicated that high numbers of free-living nitrogen fixers and nitrogenase activity associated to annual ryegrass could be punctually observed in soils collected from natural pastures within "montado" ecosystems, showing a good potential for the isolation of high-performing diazotrophic strains. Based on these observations, three representative spots of the main geological types (schist, granite and sand) dedicated to "montado" in southern Portugal were selected for further work. The aim was to constitute an assortment of isolates that could be used for subsequent selection of efficient strains. Samples of surface soils were collected and seeded with a commercial variety of annual ryegrass. Population levels of microaerophilic diazotrophs in the rhizosphere of these plants were 100-fold higher than in bulk soil, as determined by the multiple tube inoculation method for Most Probable Number estimations, using NFB semi-solid malate medium supplemented with cycloheximide. Isolation of diazotrophic bacteria proceeded from both the root external environment and plant tissues, by successive transfers on Congo-Red solid medium and Tryptone-Yeast agar plates. More than 200 isolates were obtained, either originated from the root-adherent soil fraction, the rhizoplane environment, roots, stems and leaves. Several colony morphotypes were distinguished in solid medium, varying in shape, color, transparency and viscosity. Isolates were further characterized by ERIC-PCR, a DNA-typing method based on the detection of highly repetitive and hypervariable DNA sequences. The resulting fingerprinting profiles were compared for evaluation of genomic diversity and detection of redundant isolates. This work was supported by project PTDC/AGR-AAM/100577/2008, Fundação para a Ciência e a Tecnologia, MCTES, Portugal. A.I. Delgado Rodríguez was granted by Quercus IV - Programa Leonardo da Vinci, FUNDECYT, España. N. Castanheira is granted by Fundação para a Ciência e a Tecnologia, MCTES, Portugal (SFRH/BD/69185/2010).

AT6_011 PROSPECCIÓN DE RIZOBIOS ASOCIADOS A LEGUMINOSAS PRESENTES EN LOS ESTEROS DE FARRAPOS E ISLAS DEL RIO URUGUAY

Zabaleta, María¹; Lagurara, Paula¹; Azziz, Gastón¹; Corallo, Ana Belén¹; Costa Duarte, Daniela¹; Battistoni, Federico¹; Fabiano, Elena¹
¹ BIOGEM-IBCE (Uruguay)
plagurara@gmail.com

El Area esteros de Farrapos e islas del río Uruguay que comprende los esteros de Farrapos y 24 islas e islotes bajo jurisdicción uruguaya y abarca una superficie de más de 20000 hectáreas, ha sido declarada sitio RAMSAR en el año 2004. Una parte del área ingresó al Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SNAP) de Uruguay, siendo declarada Parque Nacional muy recientemente (año 2008). La zona está constituida por un sistema de humedales ubicados en el tramo bajo del Río Uruguay, aguas abajo de la Represa de Salto Grande (binacional), que se inunda en forma permanente y/o temporaria como consecuencia de la crecidas del río. Para su inclusión como sitio SNAP, se han realizado relevamientos de la flora allí presentes, informándose la presencia de 32 especies de leguminosas. Nuestra meta es aportar al desarrollo sustentable de la región integrando los conocimientos botánicos, de ecología microbiana del suelo y su aplicación, de forma de lograr una estrategia de conservación a largo plazo de los recursos naturales ya sea botánicos como microbiológicos. En particular el objetivo de este trabajo fue relevar las leguminosas allí presentes y construir una colección de sus bacterias simbióticas asociadas. Se realizaron varias giras de prospección colectándose nódulos presentes en 37 especies diferentes de leguminosas. Las coordenadas de los sitios de muestreo fueron determinadas mediante GPS. Se colectaron muestras de diversas partes de las plantas para su posterior herborización e identificación. Una vez en el laboratorio, los nódulos fueron esterilizados en superficie y los microsimbiontes aislados en medio sólido YMA-G. Las bacterias reaisladas se almacenaron a -80 °C con glicerol 25 % (v/v). Se procesaron con este procedimiento no más de dos nódulos por planta. Se dispone actualmente de una colección de 172 microsimbiontes aislados de nódulos presentes en las siguientes leguminosas: *Acacia bonariensis* (1 aislamiento), *Acacia caven* (10), *Aeschynomene denticulata* (2), *Aeschynomene montevidensis* (5), *Albizia inundata*(1), *Arachis villosa* (11), *Calliandra parvifolia* (7), *Canavalia sp.* (2), *Chamaecrysta flexuosa* (2), *Collaea stenophylla* (4), *Erihina cristagalli* (2), *Galactia striata* (1), *Geoffroea decorticans* (1), *Indigofera suffruticosa* (5), *Inga vera* (12), *Lathyrus sp.* (1), *Lonchocarpus nitidus* (1), *Lotus corniculatus* (1), *Lotus sp.* (3), *Medicago lupulina* (1), *Melilotus albus* (1), *Melilotus indicus* (5), *Melilotus officinalis* (3), *Melilotus sp.* (5), *Mimosa adpressa* (3), *Mimosa pilulifera* (3), *Mimosa sp.* (3), *Mimosa uruguayensis* (16), *Neptunia pubescens* (1), *Ornithopus micranthus* (4), *Sesbania sp.* (15), *Sesbania punicea* (6), *Stylosanthes sp.* (1), *Tephrosia cinerea* (4), *Trifolium sp.* (14), *Vicia platensis* (4) y *Vigna luteola* (2). Se purificó el ADN genómico de los 172 microsimbiontes y actualmente están siendo analizados por secuenciación de la subunidad ribosomal 16S, del gen *nifH* y del gen *nodA* a fin de identificar los aislamientos y realizar estudios filogenéticos.

AT6_012 DIVERSIDAD DE BACTERIAS EN PLANTAS DE ARROZ CULTIVADAS EN LA MARISMA DEL GUADALQUIVIR (SEVILLA - ESPAÑA)

Reis Junior, Fabio¹; Megias, Esau²; Gomez, Maria²; Megias, Manuel¹
¹ EMBRAPA CERRADOS (Brasil); ² UNIVERSIDAD DE SEVILLA (España)
megiasg@us.es

En España, la región de Andalucía es la mayor productora de arroz, con rendimientos medios en torno a 10.000 kg ha⁻¹. Sin embargo, existe una preocupación creciente por los altos costes de producción y los efectos negativos sobre el medio ambiente en función del cultivo. El conocimiento de la diversidad de microorganismos en ese agroecosistema puede ser esencial para el desarrollo de técnicas de producción sostenibles basadas en la utilización de agentes biológicos. En la riqueza genética presente en las comunidades microbianas, están depositadas las bases fisiológicas de procesos fundamentales relacionados con la movilización de nutrientes, la capacidad de las plantas para resistir a plagas y enfermedades y adaptarse a condiciones diversas y desfavorables. Por esa razón, el objetivo de este trabajo fue aislar e identificar bacterias presentes en diferentes partes de plantas de arroz cultivadas en la marisma del río Guadalquivir. En octubre de 2010 fueron colectadas plantas (tres ejemplares diferentes) de la variedad Puntal en la fase de grano maduro. Las muestras fueron divididas en 1) suelo de rizosfera; 2) raíces esterilizadas superficialmente (ES); 3) tallos-hojas ES; 4) hojas; 5) Panículas; 6) Panículas ES. Extractos de cada una de las partes de las plantas fueron sembrados en medio de cultivo TSA 1/10 (Trypticase Soy Agar) y Agar Patata. Para el aislamiento de bacterias diazotróficas, también fueran utilizados los medios semisólidos NFB, JNFB y LGI. El ADN de las bacterias aisladas fue extraído para posterior amplificación del gen 16S ARNr por medio de PCR. Los productos de PCR fueron purificados y enviados para secuenciación.

Las secuencias generadas por los cebadores F27 y R1488 fueron concatenadas utilizando el programa SeqMAN (DNASTAR, Inc.) y preliminarmente identificadas tras una búsqueda de homología en GenBank, por medio del servidor EzTaxon (Chun *et al.* Int J Syst Evol Microbiol, 57, 2259-2261, 2007). De los 139 aislados, hasta este momento, fueron identificadas 79 cepas pertenecientes a 18 géneros distintos. En muestras provenientes de suelo rizosférico y raíces ES, las bacterias predominantes fueron cepas de *Bacillus* spp. Por otro lado, en muestras de parte aérea, la mayoría de las bacterias pertenecían al género *Pantoea*. Siete de los aislados fueron confirmados como bacterias diazotróficas, todos provenientes de muestras de suelo o raíces. De esos aislados, cinco fueron identificados como *Azospirillum irakense*, uno como *A. thiophilum* y otro como *Azovibrio strictus*. Estos resultados, aunque preliminares, muestran una interesante diversidad bacteriana asociada a las plantas de arroz cultivadas en la marisma del río Guadalquivir. Este trabajo continúa con la identificación de los aislados restantes y la búsqueda de cepas con potencial biotecnológico. La próxima etapa será el estudio de la diversidad de bacterias no cultivables que junto con los resultados ya obtenidos ofrecerá una visión más amplia y fidedigna de la diversidad bacteriana asociada a las plantas de arroz.

AT6_013 ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DEL GÉNERO *Pantoea* ASOCIADA AL CULTIVO DE ARROZ EN LA MARISMA DEL GUADALQUIVIR.

Megías, Esaú¹; Reis Junior, Fabio²; Fernández, María¹; Ollero, Javier¹; Megías, Manuel¹

¹ Universidad de Sevilla (España); ² Embrapa Cerrados (Brasil)
megiasg@us.es

Las bacterias del género *Pantoea* son aisladas habitualmente de plantas, del hombre y del medio ambiente. Se trata de un género que presenta especies fitopatógenas y patógenas oportunistas en el hombre. No obstante, también se han descrito cepas que intervienen en procesos de biocontrol, que actúan como PGPRs o incluso algunas cepas con características diazotróficas. En muestreos iniciales llevados a cabo en nuestro laboratorio, hemos encontrado una importante presencia de bacterias del género *Pantoea* como endófitas de la planta de arroz. Por medio del estudio de cuatro genes "housekeeping", *atpD*, *gyrB*, *infB* y *rpoB*, bajo un análisis del tipo MLSA, construimos la filogenia de los aislados de la marisma en relación a los datos existentes en la literatura. Los resultados nos permitieron clasificar 4 de nuestros aislados como cepas pertenecientes a las especies *P. dispersa*, *P. deleyi* y *P. ananatis*. Dos de las cepas clasificadas preliminarmente como *Pantoea* por BLAST (blastn bajo el algoritmo megablast), se encontraban agrupadas en el grupo externo usado para enraizar el árbol, por lo que no podemos seguir considerándolas como pertenecientes al género *Pantoea*. Además, la filogenia construida puso de manifiesto la presencia de un grupo de aislados cercanos filogenéticamente a *P. ananatis* y *P. alii*, pero estructurados como un clado diferente. Para comprobar la solidez del grupo se construyeron árboles filogenéticos por máxima verosimilitud (ML) para cada uno de los genes por separado, así como para el gen ARNr 16s. En todos los casos, a pesar de ligeros cambios en la topología de la filogenia, se mantenía la coherencia del clado. Dado el alto número de aislados presentes en este grupo (un total de ocho) y la diversidad espacial que presentan (fueron recogidos en diferentes zonas de la marisma en tiempos diferentes) podemos pensar en la posibilidad de estar ante una nueva especie del género, a pesar de que la distancia filogenética con el clado de *P. ananatis* es pequeña. Con el fin de comprobar si se trata de una especie nueva vamos a continuar nuestro trabajo con la caracterización molecular de ácidos grasos (PFLA) y la hibridación ADN-ADN de varios ejemplares del grupo frente a las cepas tipo de las especies más cercanas según la filogenia construida. Proyecto AGL2009/1387-C04-01

AT6_014 EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA DE TRES SUELOS DEL CARIBE COLOMBIANO

Otero-Jiménez, Vanessa¹; Torres, Guillermo²; Dowd, Scott³; Barreto, Emiliano⁴; Hume, Michael¹

¹ Centro de Biotecnología y Bioindustria - CORPOICA-C.I.Tibaitatá (Colombia); ² Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá-Colombia (Colombia); ³ USDA-ARS Livestock Issues Research Unit, Lubbock, Texas-USA (Estados Unidos); ⁴ USDA-ARS, Food and Feed Safety Research Unit, College Station, Texas-USA (Colombia)
vanesoljim@gmail.com

La producción agrícola requiere mecanismos que permitan un crecimiento sano de la planta y a la vez permitan un rendimiento en la producción, sin deterioro de la fertilidad del suelo. Una de las alternativas es el uso de microorganismos nativos que permitan reducir el uso de agroquímicos. Es así que se hace necesario conocer cuál es la estructura de las comunidades microbianas presentes en determinado suelo ya que son esas comunidades las responsables de la mayoría de transformaciones de nutrientes en el suelo, que influyen la diversidad de las plantas en el terreno y la productividad. El objetivo de este trabajo fue estimar la diversidad y composición de las comunidades microbianas por medio de pirosecuenciación en tres suelos rizosféricos asociados al cultivo de plátano. La pirosecuenciación (bTEFAP) se realizó a partir de la amplificación

de la región V9 del 16S rRNA; Las secuencias obtenidas fueron depuradas para descartar ambigüedades. Las secuencias restantes fueron alineadas con el programa MOTHUR, contra la base de datos SILVA para su clasificación filogenética. El número de OTUS fue calculado utilizando estimadores paramétricos y no paramétricos a un 3% de disimilitud en la secuencia de nucleótidos; El total de secuencias fue 55.438, de las cuales 31.348 fueron clasificadas hasta género. El promedio del número de secuencias por suelo fue de 10.334. El número de OTUS no excedió los 1.197. El índice de diversidad de Shannon varió entre 9,5 para el municipio de María la Baja y 9,8 en el municipio de Dibulla, siendo este municipio donde se encontró mayor diversidad bacteriana. Del total de secuencias el 72% correspondían a microorganismos no clasificados y el 28% restante a bacterias. Del total de las secuencias clasificadas como bacterias, cerca del 20% fueron clasificadas como Proteobacterias (phylum dominante), siendo las alfaproteobacterias la clase dominante, excepto en el municipio de María la Baja donde lo fueron las betaproteobacterias, este phylum agrupó a un gran número de bacterias asociadas al ciclo del nitrógeno. El segundo Phylum dominante fue el de las Actinobacterias, seguido por las Acidobacterias y los Bacteroidetes. En conclusión y no obstante el elevado número de secuencias obtenidas con base en los estimadores *Chao1* y *ACE*, aún no se puede estimar la riqueza total de estos suelos en especial a nivel de especie, ya que a mayor número de muestras probablemente se logre identificar más taxas que pueden estar presentes en baja abundancia; sin embargo estos resultados permiten un entendimiento de las comunidades microbianas presentes en el suelo, sugiriendo posibles vías por las cuales ellas pueden contribuir a la productividad y salud de la planta.

AT6_015 CARACTERIZACIÓN DE LA MICROFLORA FIJADORA DE NITRÓGENO EN DOS BIOTIPOS DE *Paspalum dilatatum*.

Aguerre, José¹; Rodríguez Blanco, Andrea¹; Speranza, Pablo¹

¹ Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, UdelaR (Uruguay)
andrearb@fagro.edu.uy

En Uruguay, las gramíneas perennes disponibles a nivel comercial en las praderas permanentes, son en su gran mayoría de ciclo invernal. Esto hace que la producción de las pasturas presente picos en primavera y otoño con fuertes déficits invernales y estivales. En climas templados y templado-cálidos como el nuestro, la presencia de especies estivales de metabolismo C4 juega un rol fundamental en la estabilidad ecológica del sistema. Dentro de las especies C4 potencialmente domesticables se destaca *Paspalum dilatatum* por su capacidad de producir forraje en cantidad y calidad y resistir las bajas temperaturas de la región a diferencia de otras gramíneas tropicales disponibles en el mercado. Desde la década de 1970 se cuenta con información de que especies del género *Paspalum* son capaces de asociarse con microorganismos fijadores de N₂. En el caso de *P. dilatatum*, no existe información confirmada y dados los esfuerzos que se han realizado en la región para utilizar este recurso filogenético, resulta relevante conocer las asociaciones de esta especie con fijadores de nitrógeno. Los objetivos del trabajo fueron comparar el número de bacterias diazotrofas asociadas a los biotipos *P. dilatatum* ssp. *flavescens* (2n=4x=40) y *P. dilatatum* ssp. *dilatatum* (2n=5x=50) y aislar, caracterizar e identificar diazotrofos rizosféricos y endófitos de ambos biotipos. Se obtuvieron plantas de ambos biotipos creciendo en condiciones naturales en el Centro Regional Sur de la Facultad de Agronomía y se realizaron recuentos en medios semisólidos y sólidos sin nitrógeno combinado de muestras de suelo y raíces desinfectadas superficialmente. Las poblaciones de diazotrofos rizosféricos oscilaron entre 1.1 y 1.7 x 10⁷ ufc/g suelo, sin diferencias significativas entre biotipos. El NMP de diazotrofos endófitos de raíz mostró valores entre log 5.64 y log 6.48, observándose diferencias significativas entre biotipos en el medio semisólido LGI. Empleando tres medios sólidos sin N (Ashby-sacarosa, Ashby-manitol y LG) se aislaron 315 bacterias de suelo. Por otro lado, utilizando 2 medios semisólidos sin N (LGI y jNFB) se obtuvieron 101 aislamientos de suelo rizosférico, 110 endófitos de raíz y 85 de rizoma. Se conformó una colección de 611 aislamientos provenientes de suelo, raíz y rizoma de ambos biotipos de *P. dilatatum*. En base a la morfología de las colonias se seleccionaron 80 aislamientos capaces de crecer repetidas veces en medio sin nitrógeno. Los aislamientos fueron caracterizados por el perfil de restricción del gen 16S rDNA utilizando simultáneamente las enzimas *HhaI* y *MspI*. Se distinguieron 38 perfiles, de los cuales 23 perfiles fueron únicos entre los aislamientos de suelo, 5 entre los de raíz, 4 entre los de rizoma, y 6 perfiles se presentaron en aislamientos obtenidos de distinto origen, sugiriendo que se trata de géneros/especies capaces de colonizar varias zonas de las plantas de ambos biotipos. Se ha seleccionado un conjunto de aislamientos de cada perfil de restricción que serán identificados mediante secuenciación del gen 16S rDNA.

AT6_016 ESTUDIOS DE COLECTA Y CARACTERIZACIÓN SIMBIÓTICA DE MEJORAMIENTOS FORRAJEROS PERSISTENTES CON *Lotus subbiflorus* CV. "EL RINCÓN" EN DIFERENTES AMBIENTES NATURALES DE URUGUAY.

*Russell, Horacio*¹; *Garat, Luis*²; *Siutto, Ignacio*³
¹ Facultad de Ciencias Agrarias-U.D.E. (Uruguay); ² Ing. Agr. (Uruguay); ³ Lic. en Gestión Agropecuaria (Uruguay)
russell.forrajas@gmail.com

Se estudió la presencia y contribución de esta leguminosa fijadora de nitrógeno introducida hace mucho tiempo atrás en tres mejoramientos forrajeros sembrados en cobertura sobre campos naturales de Uruguay. En dos de los casos estudiados, la introducción de *Lotus subbiflorus* cv. "El Rincón" fue realizada hace 24 años atrás (Florida y Colonia), y el restante caso es un mejoramiento de más de 10 años de vida útil (Canelones). En los estudios de caracterización ambiental comenzados en el año 2010, se realizaron análisis de suelos y estudios de composición botánica en los tapices. Se cuantificó la presencia de *Lotus subbiflorus* cv. "El Rincón" al final del ciclo productivo anual y se evaluó la producción de semillas. En otoño de 2011, se evaluó la resiembra natural de los mejoramientos. Posteriormente, se colectaron plantas vivas en cilindros de suelos y se realizó un estudio comparativo de la nodulación en las tres accesiones disponibles. Se presentan los resultados de la caracterización ambiental, y asimismo información de los estudios simbióticos realizados (plantas/m², patrones de nodulación, número de nódulos/planta, tamaño de nódulos y peso seco de nódulos/planta) y los resultados de la evaluación de la producción de semillas realizada por componentes del rendimiento. Se dispone de plantas vivas de las tres accesiones en un Jardín de Introducción y de una cantidad suficiente de semillas para poder realizar trabajos de mejoramiento genético de estos pares simbióticos. Finalmente, se obtuvo una colección de cepas de rizobios que presentan características favorables en cuanto a su persistencia productiva en los tapices vegetales.

AT6_017 LOTUS ULIGINOSUS SYMBIONTS ARE CLOSELY RELATED TO *Bradyrhizobium japonicum* BIOVAR *Genistearum* RHIZOBIA

*Lorite, María José*¹; *Videira e Castro, Isabele*²; *Olivares, José*¹; *Sanjuán, Juan*¹
¹ EEZ-CSIC (España); ² INIA-INRB (Portugal)
JUAN.SANJUAN@EEZ.CSIC.ES

In this work we characterised bacteria that establish efficient nitrogen-fixing symbiosis with the forage legume *Lotus uliginosus*. A total of 39 bacterial isolates from nodules of field grown *L. uliginosus* plants in Portugal, plus the commercial inoculant strain NZP2039 were characterised. 16S, *recA* and *glnII* phylogenetic analyses showed that all strains are closely related to the species *Bradyrhizobium japonicum*. Characterization of symbiotic *nifH* and *nodC* genes, together with host-range tests indicated that the *L. uliginosus* rhizobia are genotypically and phenotypically related to bv. *genistearum* rhizobia, able to nodulate non-*Lotus* species like *Lupinus luteus* but unable to nodulate *Glycine* spp. *L. uliginosus* strains were unable to establish efficient nitrogen-fixing symbiosis with other *Lotus* species like *L. corniculatus* or *L. tenuis*. Thus, *L. uliginosus* rhizobia show very different symbiotic features and separated phylogenetic history to the mesorhizobia that are the typical symbionts of other *Lotus* species like *L. corniculatus*, *L. tenuis* or *L. japonicus*.

AT6_018 CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS SIMBIÓTICOS EN ESPECIES DE BACTERIAS QUE NODULAN *Lotus tenuis*

*Tonucci, Facundo*¹; *Estrella, María Julia*²; *Ruiz, Oscar*¹; *Sannazzaro, Analía*¹
¹ IIB-INTECH (Argentina); ² IIB-INTECH Investigador CIC (Argentina)
analía@intech.gov.ar

Lotus tenuis es una leguminosa adaptada a los suelos de la Pampa Deprimida del Salado (Buenos Aires, Argentina) que constituye una herramienta agronómica útil para la producción ganadera de la zona, considerando la buena productividad de esta pastura en los suelos restrictivos de esta región, en comparación con otras pasturas tradicionales como alfalfa y trébol. El éxito de su implantación se basa, en parte, en su habilidad para fijar nitrógeno atmosférico mediante el establecimiento de la simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno conocidas como rizobios. Tradicionalmente se asume que *Mesorhizobium loti* es el microsimbionte habitual de *L. tenuis*. En estudios previos se han caracterizado taxonómicamente aislamientos nativos de rizobios obtenidos de plantas de *L. tenuis* provenientes de la región. La mayor parte de estos aislamientos se relacionaron con diferentes especies del género *Mesorhizobium*. Interesantemente, algunos de los aislamientos testeados se encuentran taxonómicamente relacionados a especies del género *Rhizobium*, simbiote habitual de *Phaseolus vulgaris*. Esta fue la primera vez que dicho género bacteriano se encontró asociado a plantas de *L. tenuis*. Por otra parte se encontró un aislamiento que se relaciona estrechamente con el

género *Aminobacter*, organismo que no interactúa con las plantas. En *Mesorhizobium* spp., los genes requeridos para la simbiosis se localizan en islas simbióticas cromosomales, mientras que en *Rhizobium* spp. los genes simbióticos se encuentran en plásmidos. En ambos casos se ha evidenciado que los sistemas simbióticos pueden ser transferidos a otras bacterias mediante eventos de transferencia lateral. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar los elementos que permitieron a estas bacterias evolucionar como nuevos simbiontes de *L. tenuis*. Se ha evidenciado que no todos los aislamientos de *Rhizobium* que fueron capaces de nodular *L. tenuis* lo han hecho de manera eficiente, lo cual pone de manifiesto la necesidad de otros elementos implicados en la fijación de nitrógeno, además de los genes simbióticos conocidos. Por otra parte, los resultados sugieren que dichos aislamientos adquirieron su capacidad de nodular esta especie a través de la adquisición de una isla simbiótica similar a la que se encuentra presente en cepas de *M. loti*, de acuerdo al análisis de las secuencias cromosomales presentes en el sitio de inserción de dicha isla. Este hecho tendría importantes implicancias desde el punto de vista agronómico, ya que el desarrollo de inoculantes para *L. tenuis* actualmente se encuentra limitado a las especies de *M. loti* y con ello a su capacidad de sobrevivir en las condiciones restrictivas que le imponen los suelos de esta región. Nuestros resultados indican que sería posible transferir la isla simbiótica de *M. loti* a otras especies o géneros bacterianos que puedan estar mucho mejor adaptados a los suelos donde se cultiva esta leguminosa.

AT6_019 AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DEL "RIZOBIO" ASOCIADO A MUCUNA, *Stizolobium aterrimum* PIPER & TRACY EN LA PROVINCIA DE LOS RIOS- ECUADOR

*Torres Navarrete, Emma*¹; *Cueva Párraga, Vátison*¹; *Díaz Coronel, Gorki*¹; *Estupiñán Véliz, Kleber*¹; *Mora Silva, Washington*¹; *López Sánchez, Raúl*²; *Jácome López, Germán*¹
¹ Universidad Técnica Estatal de Quevedo (Ecuador); ² Universidad de Granma (Cuba)
emdatona@hotmail.com

Se realizó el aislamiento y caracterización fenotípica de rizobios que nodulan a la mucuna (*Stizolobium aterrimum*) procedentes de suelos de seis cantones de la provincia de Los Ríos - Ecuador (Quevedo, Mocache y Palenque, Buena Fé, Valencia y Ventanas). El trabajo de campo se realizó en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo ubicado en el Campus "Manuel Agustín Haz Álvarez" durante el año 2009-2010; para el aislamiento de la bacteria se inocularon plántulas de mucuna con sustrato de los suelos colectados, las mismas que crecieron bajo invernadero por un lapso de 60 días, posteriormente, se procedió a realizar el procesamiento de los nódulos para el aislamiento de la bacteria. Se determinó el Número más probable (NMP) de rizobios por gramo de suelo resultando la localidad de Palenque la que presentó mayor cantidad de rizobios (1.7×10^3 x 10^3) mientras que la localidad de Quevedo presentó el menor número de rizobios (3.1×10^2 x 10^3). Una vez aisladas las bacterias (126 aislamientos), se realizaron varias purificaciones hasta obtener cultivos puros; para confirmar que las bacterias aisladas sean rizobios se sometieron a las pruebas de tinción de Gram y 3-ketolactasa lo que permitió finalmente la obtención de 36 aislamientos, los mismos que fueron caracterizados fenotípicamente. Todos los aislamientos resultaron ser de crecimiento rápido lo que confirmó ser rizobios, La caracterización fenotípica demostró que los aislamientos tienen características similares para tolerar condiciones adversas de crecimiento (acidez, salinidad). Finalmente, se seleccionaron 20 aislamientos que tienen un potencial uso como bioinóculos (biofertilizantes), los cuales están almacenados en el Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la UTEQ en tubos de ensayo con tapa rosca conteniendo agar inclinado y en refrigeración a una temperatura de cuatro grados centígrados para ser utilizados en posteriores trabajos relacionados con la caracterización molecular de los aislamientos así como la capacidad de FN atmosférico.

AT6_020 DIVERSITY OF SYMBIOTIC METALLICOLOUS RHIZOBIAL BACTERIA

*Pereira, Sofia*¹; *Figueira, Etelvina*¹; *Videira e Castro, Isabel*²
¹ Departamento de Biología, Universidade de Aveiro, Aveiro (Portugal); ² Laboratório de Microbiologia, UARN, INIA, Instituto Nacional dos Recursos Biológicos, 2780-159 Oeiras (Portugal)
isabel.castro@inrb.pt

Soils in mining and industrial areas are enriched with toxic metals and have frequently a very low organic matter and nitrogen content. These areas are sources of serious environmental and health hazards and strategies for their rehabilitation have been increasingly developed in the last decade. For the ecological and economic rehabilitation of contaminated soils, it is important to find plant species tolerant to metals that would serve as a direct and indirect source of nutrients and facilitate the installation of other species to increase biological diversity. The introduction of legumes as pioneer plants in contaminated soils after mining or industry activities may considerably improve the rehabilitation of these soils. Mutualistic interactions between legumes and their

symbiotic *Rhizobium* bacteria play a key role in ecosystem restoration mainly by increasing plant productivity through enhanced N capture and by promoting the maintenance of plant cover. However, high concentrations of metals can either restrict the nodulation of legume species or inactivate biological symbiotic nitrogen fixation by forming ineffective root nodules with *Rhizobium* (Castro et al., 1997). But in some cases microorganisms, including rhizobia, survive even in high levels of metals and the microbial activity can therefore, help to recover these polluted areas.

The aim of this work was focused on the effects of metal toxicity on nitrogen fixation bacteria, particularly to evaluate the influence of different metals in the diversity and in the levels of tolerance of rhizobial populations isolated from 2 different contaminated soils: one from a mine site contaminated with metals, mainly Pb, but also Cd and As, as a result of the mining extractions undertaken during over 100 years and the other from an industrial area where the effluents from chemical industry have high concentrations of toxic pollutants, mainly Hg and As. Rhizobial population was isolated from these contaminated soils, using different host plants taking into account legumes distribution in the referred geographical area (*Trifolium repens* for the mining area and *Lotus uliginosus* for industrial area). Results indicated a high genetic diversity among natural population isolated from both contaminated soils, when analysed by molecular fingerprintings. It was also found that population from these contaminated soils belong to different species of bacteria, including non-rhizobia, such as *Burkholderia* sp. Nitrogen fixation evaluation showed that the population isolated from lotus were much more effective than that from clover, although isolates from both soils were tolerant to high concentrations of As and Pb, respectively. These results also showed that some symbioses, like Lotus/rhizobia, seem to be more adapted to harsh conditions and will help the rehabilitation of contaminated soils. Also, some of these bacteria, although not effective, have the ability to produce plant growth promoting compounds, which may reduce the toxic effects on the plants caused by excess metal concentrations. References Castro et al. 1997 Soil Biology and Biochemistry 29, 1209-1213.

AT6_021 CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DIVERSIDAD ESPECÍFICA DE *Trichoderma* EN SUELOS DEL NOROESTE ARGENTINO BAJO DISTINTOS USOS

Vogrig, Jimena Andrea¹; Chiocchio, Viviana Mónica¹; Correa, Olga Susana¹

¹ Microbiología Agrícola y Ambiental, INBA-CONICET. Facultad de Agronomía - Universidad de Buenos Aires (Argentina)
vogrig@agro.uba.ar

El desmonte y el cambio en el uso de los suelos conlleva a alteraciones del ambiente edáfico. Esto incide en la diversidad microbiana en general y en la de los hongos en particular, debido a su mayor sensibilidad al disturbio del suelo. *Trichoderma* es un hongo ubicuo y saprófito del suelo, con diversidad de especies adaptadas a distintos hábitats. Estas características sumadas a su reconocida actividad como antagonista de hongos patógenos, le otorgan a este género la potencialidad para ser utilizado como bioindicador de la calidad de los suelos. En el presente trabajo se propone identificar mediante taxonomía clásica las especies de *Trichoderma* presentes en suelos del noroeste argentino con diferente historia agrícola, para establecer si *Trichoderma* puede ser un indicador microbiológico de la calidad de estos suelos. Se tomaron muestras de suelo en la localidad de Las Lajitas, Salta. Los sitios muestreados corresponden a suelos con distintos usos (S20, 20 años de cultivo trigo-soja; PR3 e I13, 3 años de cultivo trigo-soja) y suelos prístinos (M, cortinas forestales adyacentes a los suelos cultivados). Las muestras de suelo se lavaron en un aparato para muestras múltiples. Los agregados lavados y retenidos en tamices de 1,2 mm; 0,7 mm; 0,2 mm de tamaño de malla, fueron sembrados en placas de Petri con medio PDA-Rosa de bengala, las cuales se incubaron durante 7 días a 25°C y 8 h de luz. Posteriormente, se aislaron las colonias que mostraron características típicas de *Trichoderma* y se procedió a su identificación mediante taxonomía clásica. Finalmente, se realizaron análisis de similitud entre los diferentes sitios de estudio aplicando el coeficiente de similitud de Sorensen. Se obtuvieron un total de 73 colonias de *Trichoderma*. Un mayor número de aislamientos se obtuvo de los suelos prístinos (32 aislamientos) que de los suelos con 3 y 20 años de cultivo trigo-soja (19, 15 y 7 aislamientos para PR3, I3 S20, respectivamente). La riqueza de especies de *Trichoderma* fue mayor en los suelos prístinos, en los cuales se identificaron 6 especies, mientras que solamente se identificaron 3 especies en los sitios con 20 años de uso agrícola. Por otra parte, se observó un aumento en el número de *T. viride* en el suelo S20 y una disminución de *T. longibrachiatum*. Los resultados del índice de Sorensen demostraron que los sitios con mayor similitud fueron M - PR3 y I13-PR3, mientras que la menor similitud se observó entre S20 y los otros tres suelos. El uso agrícola de los suelos altera la composición de la población de *Trichoderma*, disminuyendo su número y diversidad. Si bien el estudio requiere del análisis de otros suelos, los presentes resultados sugieren la potencial utilidad del género *Trichoderma* (en general), y de las especies *T. longibrachiatum* y *T. viride* (en particular) como indicadores microbianos de la calidad de estos suelos.

20:00 a 21:00

XXV RELAR y I MIPCV

Cena de Clausura

Viernes 9

09:00 a 09:50

XXV RELAR y I MIPCV

Área Temática 7: Interacción planta - microorganismo

Coordinador: *Omar Borsari*

Coordinador: *Fabiana Pezzani*

Structural interaction between endophytic diazotrophic bacteria and graminaceous plants revisited throughout functional genomics era

Conferencista: *Fabio Olivares* (Brasil)

Avances en la investigación sobre micorrizas arbusculares en Uruguay

Conferencista: *Fabiana Pezzani* (Uruguay)

AT7_001 STRUCTURAL INTERACTION BETWEEN ENDOPHYTIC DIAZOTROPIC BACTERIA AND GRAMINACEOUS PLANTS REVISITED THROUGHOUT FUNCTIONAL GENOMICS ERA

Olivares, Fabio Lopes¹; Baldani, José Ivo²; Vidal, Márcia Soares²

¹ UENF/CBB/LBCT (Brasil); ² Embrapa Agrobiologia (Brasil)
fabio.olivares@gmail.com

The endophytic behavior for diazotrophic bacteria associated to graminaceous plants was recognized by Döbereiner in the early 1990s. After that, many scientific contributions had established the structural basis of the interaction involving cell wall surface attachment, ways of infection and endophytic establishment of the plant host tissue. The growing data coming from structural and functional genomics for endophytic and phytopathogenic bacteria as well from Poaceae species offer a powerful and integrative possibility to revisit anatomical and ultrastructural aspects of the endophytic interaction. Considering such scenarios, the involvement of the biological surface macromolecules (EPS, LPS and glycoprotein) and bacteria structures (fibrils, flagellum and fimbria), cell wall degrading enzymes, structural and signal transduction proteins will be emphasized in relation to adhesion and anchoring initial events of the interaction. The widely recognized lateral root way of infection for access to the endophytic environment will be revisited considering key molecules secreted by the bacteria and its effect over plant cell wall and tissue systems. From the plant side, genetic re-programming of the cell cycle, bioenergetics changes modulated by proton ATPase pumps and signal transduction events will be considered. Endophytic establishment of the apoplasmic compartment, vascular tissue colonization, and systemic spread of the bacteria will be also highlighted confronting chemotaxis, tylose phenomenon, plant cell programmed death and candidates molecules mediating the success and failure of the interaction. At last, the activity and physiological status of the bacteria inside the apoplast of the plant host based on the expression of a biofilm behavior will be proposed as a model to explain the contribution of the endophytic BNF to plant nitrogen nutrition and metabolism.

AT7_002 AVANCES EN LA INVESTIGACIÓN SOBRE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN URUGUAY

Pezzani, Fabiana¹

¹ Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Uruguay. (Uruguay)
fabiana@fagro.edu.uy

Entre las interacciones más importantes desde el punto de vista de su posible manejo para mejorar la productividad vegetal y promover otros servicios de interés que brindan tanto los sistemas naturales como los productivos (por ejemplo mantenimiento de la fertilidad edáfica) se encuentran las micorrizas arbusculares. En Uruguay son muy escasos los antecedentes sobre micorrizas arbusculares: Aguilar et al. (2004) evaluaron la micorrización de *Lotus subbiflorus* en diferentes situaciones de fertilización fosfatada; Montañez et al. (2008) evaluaron los efectos de la fertilización con fósforo sobre la micorrización arbuscular de cuatro especies de *Desmanthus* sp.; Sanjurjo et al. (2008 a,b) estudiaron las micorrizas como indicadores de calidad de suelos en distintos sistemas de intensidad de uso así como también la endomicorrización en *Parapiptadenia rigida*. Actualmente, Costa et al. (RELAR 2011) están trabajando en la diversidad de micorrizas arbusculares y bacterias promotoras del crecimiento en cultivares de vid para su evaluación en el enraizamiento y establecimiento de

plantines en campo. Cabe resaltar que no existía ningún trabajo que considerara las comunidades de pastizales naturales ni las gramíneas nativas. En este sentido cabe señalar que el campo natural en Uruguay (nombre con el que comúnmente se denominan los pastizales naturales en el país) cubre la mayor parte de la superficie nacional (aprox. 70%) y constituye la principal fuente de forraje para la producción ganadera, base de la economía nacional. Desde 2006 hemos iniciado una línea de investigación cuyo objetivo es el estudio de las micorrizas arbusculares en los pastizales de Uruguay, con especial énfasis en especies nativas de interés forrajero. En el marco de dicha línea, se han planteado los siguientes trabajos: 1) Evaluar la presencia de micorrizas arbusculares en situaciones de pastoreo y de exclusión del ganado en especies de gramíneas nativas (*Stipa neessiana* y *Coelorhachis selloana*), con diferente metabolismo fotosintético, muy frecuentes y abundantes en los pastizales naturales. 2) Analizar los efectos del pastoreo sobre la micorrización de *Paspalum dilatatum* (gramínea nativa, perenne, de alto valor forrajero) a través de un experimento factorial en que se consideran los efectos correspondientes a intensidad de pastoreo, selectividad, pisoteo y deyecciones. 3) Evaluar los efectos de la fertilización fosfatada como posible factor de cambio de la composición florística de una comunidad vegetal de campo natural a través de los efectos de diferentes niveles de fósforo sobre la simbiosis micorrízica. Se han encontrado altos niveles de micorrización en gramíneas nativas, particularmente en especies con metabolismo C4. Asimismo, se ha constatado una marcada estacionalidad de la colonización por micorrizas arbusculares (Pezzani, 2009; Parodi & Pezzani, 2011). En relación a los efectos del pastoreo sobre esta interacción, se ha observado que en situación de clausura las plantas de *P. dilatatum* presentaron diferencias en la presencia de estructuras de intercambio (arbusculos y ovillos) en relación a las plantas bajo pastoreo (García et al., RELAR 2011). Los resultados preliminares muestran cambios en la composición botánica del campo natural por efectos de la fertilización fosfatada: *Cynodon dactylon* (especie invasora) aumentó su abundancia, mientras que disminuyeron las gramíneas nativas perennes, tanto estivales como invernales. Mientras que *C. dactylon* presentó altos niveles de micorrización en todos los tratamientos, dos especies nativas, *Panicum hians* y *Coelorhachis selloana* tuvieron menor micorrización en sus raíces en las parcelas fertilizadas, siendo más notorio este efecto en las parcelas con alto contenido de *P. dilatatum* presentó alta colonización total pero menor presencia de arbusculos y ovillos en las parcelas con alto P (Pezzani et al., RELAR 2011) Este estudio se lleva a cabo en un experimento de larga duración que a la fecha lleva 13 años de fertilización fosfatada. También se está evaluando el potencial micorrízico observándose diferencias en ambos parámetros debidas a los tratamientos de fertilización. Esta es la primera vez que se estudia en Uruguay la abundancia y diversidad de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares presentes en los suelos. Bibliografía Aguilar, C., Cassanova O. & Bordoli, M. 2004. Evaluación de la micorrización y la fertilización fosfatada en Lotus Rincón. En: Memorias de la XX Reunión del grupo Técnico Regional del Cono Sur en el Mejoramiento y Utilización de los Recursos Forrajeros del Area Subtropical y Tropical -Grupo Campos. Salto, Uruguay. pp. 281-282. Costa, D., Sicardi, M. & Montañez, A. 2011. Diversidad de micorrizas arbusculares y bacterias promotoras del crecimiento en cultivares de vid para su evaluación en el enraizamiento y establecimiento de plantines en campo. En: Resúmenes XXV Reunión Latinoamericana de Rizobiología (RELAR). Piriápolis. Uruguay. García, S., Pezzani, F. & Lezama, F. 2011. Análisis de los efectos del pastoreo sobre la interacción micorrízica en *Paspalum dilatatum* Poir. En: Resúmenes XXV Reunión Latinoamericana de Rizobiología (RELAR). Piriápolis. Uruguay. Parodi, G. & Pezzani, F. 2011. Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas de Uruguay en situaciones con y sin pastoreo. Agrociencia (en prensa). Pezzani F. 2009. Variación en la colonización de hongos micorrizógenos arbusculares en gramíneas nativas de los pastizales de Uruguay por efecto del pastoreo. En: XXIV Reunión Latinoamericana de Rizobiología (RELAR) y I Conferencia Iberoamericana de Interacciones beneficiosas microorganismo-planta-ambiente (I IBEMPA). La Habana, Cuba. pp. 190. Pezzani, F., Lezama, F., Rodríguez, Amabelia del Pino, Gerardo Parodi, Silvina García, Mauricio Alchurrut y Martín Jaurena. 2011. Micorrizas arbusculares y composición florística de comunidades de pastizales naturales: efectos a largo plazo de la fertilización fosfatada. En: Resúmenes XXV Reunión Latinoamericana de Rizobiología (RELAR). Piriápolis. Uruguay. Sanjurjo L., Rodríguez A., Sicardi M. y Frioni L. 2008a. Micorrizas como indicadores de calidad de suelos en distintos sistemas de intensidad de uso. VIII Encuentro Nacional de Microbiólogos, Montevideo, Uruguay pp. 24. Sanjurjo L., Rodríguez A., Sicardi M. y Frioni L. 2008b. Evaluación de endomicorrización en *Parapiptadenia rigida* (Angico). VIII Encuentro Nacional de Microbiólogos, Montevideo, Uruguay pp. 37.

09:50 a 10:30

XXV RELAR y I MIPCV

Presentaciones orales AT7

AT7_003 PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO E INDUCCIÓN DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE EN RESPUESTA AL ESTRÉS HÍDRICO Y REHIDRATACIÓN EN LA ASOCIACIÓN SIMBIÓTICA *Bradyrhizobium* SP.-MANÍ

*Furlan, Ana Laura*¹; *Castro, Stella*¹

¹ Departamento de Ciencias Naturales. Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (Argentina) afurlan@exa.unrc.edu.ar

El estrés hídrico es considerado uno de los factores abióticos más importantes y limitantes para la producción del cultivo de maní en la provincia de Córdoba. El objetivo de este trabajo es estudiar las respuestas fisiológicas y bioquímicas en condiciones de estrés hídrico y posterior rehidratación en la asociación simbiótica *Bradyrhizobium* sp.-maní. Para ello, se evaluaron: a) producción de especies reactivas del oxígeno (EROs): O_2^- y H_2O_2 ; b) daño oxidativo a biomoléculas: peroxidación lipídica por acumulación de malondialdehído (MDA); c) actividad de las enzimas antioxidantes: catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD). Experimentalmente, semillas de maní (cv Granoleico) inoculadas con la cepa *Bradyrhizobium* sp. SEMIA6144 crecieron en arena volcánica hasta la etapa fenológica R1 (floración) y se dividieron al azar en tres grupos: *control*: riego continuo; *estrés hídrico*: suspensión del riego; *rehidratación*: reinicio del riego en plantas sometidas a estrés. En el período de rehidratación se tomaron muestras a distintos tiempos (12, 24, 48 y 72 horas). Durante el ensayo se evaluó el potencial osmótico (Ψ_o) con el fin de establecer las condiciones hídricas de hojas y nódulos. En hojas, el Ψ_o control fue -0,394 MPa, y para estrés hídrico -0,561 MPa revirtiendo al valor control a las 72 horas post-rehidratación. En nódulos, los valores Ψ_o fueron: -0,873, -1,208 y -0,737 MPa para controles, estresadas y rehidratadas, respectivamente. La detección histoquímica de EROs reveló un marcado incremento en la formación de O_2^- y H_2O_2 en condiciones de estrés hídrico disminuyendo a las 72 horas post-rehidratación en hojas y nódulos. Estos resultados se corroboraron realizando la cuantificación de H_2O_2 en los órganos de la planta. En condiciones de estrés hídrico se observó un aumento significativo en el contenido de MDA, el cual revirtió a las 12 horas en hojas y a las 24 horas en nódulos luego de la rehidratación. Por otro lado, la actividad específica CAT mostró un aumento significativo en los nódulos mientras que la actividad SOD incrementó en hojas de plantas estresadas disminuyendo las actividades de ambas enzimas bajo la condición de rehidratación. En conclusión, el estrés hídrico provocó la acumulación de EROs y el consiguiente daño a biomoléculas, y la inducción de las enzimas antioxidantes. La enzima CAT cumpliría un rol fundamental en la detoxificación de EROs en nódulos, mientras que esa función sería llevada a cabo por SOD en hojas. La rehidratación conlleva a una reducción en los niveles de EROs. Así, el metabolismo antioxidante, en los diferentes órganos de las plantas de maní, exhibe respuestas diferenciales en condiciones de estrés y posterior rehidratación.

AT7_004 DESCIFRANDO LA DINAMICA DE LA INTERACCION MICROORGANISMO-PLANTA

*Morel, María*¹; *Dardanelli, Marta S.*²; *Olivera, Silvia*³; *Castro-Sowinski, Susana*⁴

¹ Unidad de Microbiología Molecular, IIBCE (Uruguay); ² Departamento de Biología Molecular, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto (Argentina); ³ Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, IIBCE (Uruguay); ⁴ Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, UdelAR (Uruguay) mmorel@iibce.edu.uy

Delftia sp. JD2 es una bacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPB, del inglés Plant Growth Promoting Bacteria) que produce ácido indol-acético (AIA) y promueve el crecimiento de *Medicago sativa* (alfalfa), según ensayos gnotobióticos de inoculación y co-inoculación con el rizobio del inoculante nacional (*Sinorhizobium meliloti* U143). Nuestro grupo de investigación se ha interesado en profundizar en el conocimiento bioquímico y tecnológico de este microorganismo, debido a que estas y otras propiedades detectadas en JD2 nos recuerdan a las bacterias pertenecientes al género *Azospirillum*, ampliamente reconocido por su potencial PGPB. El objetivo de este trabajo fue analizar: 1) las moléculas señal involucradas en la interacción microorganismo-planta (alfalfa) durante la inoculación simple (JD2 o U143) y la co-inoculación (JD2-U143) y 2) la colonización de las raíces por ambas bacterias. Se determinó la composición de flavonoides y la producción de AIA en los exudados radiculares obtenidos en ensayos de hidroponía, por HPLC/MS, y la composición de polisacáridos y lípidos en los mismos, por GC. Estos estudios se realizaron a los 4, 7 y 15 días de inoculación. Además, se transformaron células de JD2 y U143 con plásmidos conteniendo GFP y CFP auto-fluorescentes, respectivamente, con el fin de ubicar la zona de colonización bacteriana de las raíces por microscopía. Se detectó

un aumento significativo de la secreción de luteolina (flavona) e isoflavonas, así como también de polisacáridos y lípidos, durante la co-inoculación en relación con la inoculación simple. La luteolina es el principal flavonoide producido por alfalfa y es además, un inductor de los genes de nodulación. La mayor secreción de flavonoides, polisacáridos y lípidos se detectó a los primeros 4 días de inoculación. Los resultados sugieren que durante la co-inoculación, JD2 induce la secreción de flavonoides involucrados en un eficiente proceso de infección de las raíces de alfalfa por el rizobio analizado. Este resultado explica al menos parcialmente el efecto positivo de JD2 en el establecimiento de la asociación rizobio-planta. Durante la presentación de este trabajo se discutirá la posible función de los cambios en el perfil de flavonoides, polisacáridos y lípidos en una eficiente interacción microorganismo-planta. Actualmente se están realizando ensayos de microscopía tendientes a identificar los sitios de colonización de JD2 en las raíces de alfalfa. ¿Existe la posibilidad de que JD2 sea un endófito? Estos resultados son los primeros antecedentes tendientes a diseñar un modelo de interacción microorganismo-planta en esta nueva bacteria PGPB. Los autores agradecen a PEDECIBA y ANII.

AT7_005 LA SOBREENPRESIÓN DE LA ENDOGLUCANASA (CELC2) EN *Rhizobium leguminosarum* BV. TRIFOLIUM E11, AUMENTA SU CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN, INFECCIÓN E INCREMENTA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS DE ARROZ (*Oryza sativa*)

Rivera, Lina P¹; Robledo, Marta¹; Menéndez, Esther¹; Rivas, Raúl¹; Velázquez, Encarna¹; Yanni, Youssef²; Martínez-Molina, Eustoquio¹; Dazzo, Frank B³; Mateos, Pedro F¹

¹ Departamento de microbiología y genética. Universidad de Salamanca (España); ² Sakha Agricultural Research Station (Egipto); ³ Department of Microbiology and Molecular Genetics, Michigan State University (Estados Unidos)
lpr@usal.es

Las estimaciones de la FAO acerca de los requerimientos alimentarios de la humanidad para el siglo XXI prevén la necesidad de un aumento del 60% en la producción agrícola, siendo el arroz el cultivo más importante utilizado en alimentación humana ya que la superficie dedicada a este cultivo en el mundo es de unas 150 millones de has con una producción de 600 millones de toneladas anuales. Estudios realizados en todo el mundo han demostrado que los rizobios además de comportarse como endosimbiontes en leguminosas también tiene la capacidad de formar asociaciones endofíticas con diversos cereales generando la promoción del crecimiento vegetativo, rendimiento de grano y eficiencia en el uso de fertilizantes nitrogenados (Frank B. Dazzo, 2005). Previamente aislamos y seleccionamos varias cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii que eran Nod⁺ Fix⁺ en trébol y que tenían el potencial de promover el crecimiento del arroz y su productividad tanto en condiciones de laboratorio como en ensayos de campo (Yanni et al., 1997; Yanni et al., 2001). Como continuación de este trabajo seleccionamos una cepa, *R. leguminosarum* bv. trifolii E11, que incrementaba significativamente el rendimiento de grano de arroz y el índice de la cosecha con una disminución del uso de fertilizantes químicos. Los beneficios de esta asociación *Rhizobium*-arroz no se deben a la fijación biológica de nitrógeno sino a otros factores que promueven el crecimiento vegetal. No obstante, para seleccionar un microorganismo y utilizarlo de forma eficiente sería necesario además determinar su capacidad de invadir dicha planta causando el menor daño posible. La pared celular vegetal es una barrera física de defensa frente a la infección de los microorganismos presentes en la rizosfera. Sin embargo, en la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, el microsimbionte es capaz de atravesarla sin destruirla ni activar los mecanismos de defensa. Consideramos que esta característica se debe, en parte, a la celulasa CelC2 y probablemente a las celulasas asociadas a operones similares al *celABC*. Según los trabajos realizados en nuestro laboratorio hemos comprobado que una de las celulasas (CelC2) producidas por el microsimbionte *R. leguminosarum* bv. trifolii ANU843 puede hidrolizar de una forma muy localizada y específica la pared celular de su planta homóloga *Trifolium repens* evitando la destrucción de la misma y facilitando la entrada de la bacteria (Robledo et al., 2008). La obtención de mutantes superproductores de la actividad celulásica CelC2 nos ha permitido comprobar que estas cepas tienen incrementada su capacidad infectiva. Mediante el uso de distintas técnicas microscópicas (óptica, confocal, electrónica) hemos comprobado que estas cepas superproductoras tienen incrementado su mecanismo de invasión no canónica a través de los espacios intercelulares. Como consecuencia de esta mayor infectividad realizamos ensayos de inoculación en diferentes cultivos y variedades de leguminosas y cereales. Los resultados obtenidos muestran como un mutante de la cepa E11 que sobreexpresa la celulasa CelC2, aumenta la capacidad de infectar las raíces de arroz y promover la producción de semillas.

10:30 a 11:00

Pausa

11:00 a 13:00

XXV RELAR y I MIPCV

Sesión de posters AT7

AT7_006 AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ISOLADAS DE CAPIM-ELEFANTE NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Baldani, Vera Lúcia¹; de Oliveira, Danilo Messias¹; Sampaio Videira, Sandy¹; Estrada Bonilla, German¹

¹ Embrapa AGROBIOLOGIA (Brasil)
vera@cnpab.embrapa.br

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), espécie de grande potencial bioenergético, tem mostrado contribuições significativas da fixação biológica de nitrogênio (FBN), no entanto, pouco se sabe sobre a diversidade funcional das bactérias diazotróficas associadas a esta planta. Considerando a importância ecológica e econômica do uso da associação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) com plantas de capim-elefante, este trabalho tem por objetivo identificar e selecionar bactérias diazotróficas eficientes na solubilização de fosfato inorgânico (SFI) e produtora de compostos indólicos. Neste estudo foram testados 257 isolados obtidos durante o processo de isolamento de bactérias diazotróficas das cultivares de capim-elefante Cameroon e CNPGL-F06 coletadas no campo experimental da Embrapa Agrobiologia/Seropédica-RJ para a avaliação da diversidade funcional destes microrganismos. A capacidade de SFI foi testada em meio de cultura GL sólido, onde foram adicionados ao meio 10 ml de K₂HPO₄ (10 %) e 20 ml de CaCl₂ (10 %) para formação de precipitado insolúvel de CaHPO₄. Após o cultivo das bactérias em meio DYGS uma alíquota de 20 ml foi retirada e inoculada, em forma de gota, na superfície da placa de Petri contendo meio de cultura GL sólido. Após 5 dias de incubação a 30°C, avaliou-se formação do halo transparente ao redor das colônias, o que indica a solubilização do fosfato adicionado ao meio de cultura. Nos testes de produção de compostos indólicos os isolados foram cultivadas em meio DYGS com adição de L-triptofano, sob agitação (120 rpm) e ausência de luz, com temperatura de 30°C. Aliquotas de 1 ml foram retiradas após 48 e 72 horas de cultivo e centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos. Em microplacas de 96 poços, uma alíquota de 150 ml do sobrenadante, com 3 repetições de cada amostra, foi misturado a 100 ml do reagente de Salkowski (1 ml de 0,5 M FeCl₃ em 49 ml de ácido perclórico 35 %) previamente preparado. As amostras permaneceram no escuro por 30 minutos sob temperatura ambiente e em seguida foi realizado a leitura de absorbância em um leitor de microplaca (Labsystem iems reader MF, Labsystem) com um comprimento de onda de 540 nm. A quantificação de compostos indólicos foi avaliada utilizando da curva de calibração preparada com diluições seriadas de uma solução padrão de ácido-3-indol acético com concentrações entre 0 a 50 mg ml⁻¹. Dos 257 isolados de bactérias diazotróficas oriundos de plantas de capim-elefante, 54 apses entraram capacidade de solubilizar o precipitado de CaHPO₄ em meio sólido. Todos os isolados bacterianos e estirpes-tipo testados foram capazes de produzir compostos indólicos na presença de L-triptofano nas condições testadas. O manejo de BPCV associadas a plantas de capim-elefante pode ser uma alternativa para diminuição do uso de fertilizantes químicos fosfatados, além de favorecer uma melhor absorção de nutrientes devido ao aumento do sistema radicular pelo efeito bioestimulante de algumas bactérias.

AT7_007 ANÁLISIS DE LOS EFECTOS DEL PASTOREO SOBRE LA INTERACCIÓN MICORRÍZICA EN *Paspalum dilatatum* POIR.

García, Silvina¹; Pezzani, Fabiana¹; Lezama, Felipe¹

¹ Ecología - Unidad de Sistemas Ambientales - Facultad de Agronomía - Universidad de la República (Uruguay)
silviggarcia@gmail.com

Una de las especies vegetales más importantes en los pastizales uruguayos, debido a su alta abundancia, su gran palatabilidad y su alto valor forrajero es *Paspalum dilatatum*. Es una gramínea perenne, de ciclo estival, C4, que resiste altos niveles de pastoreo. Las micorrizas arbusculares están presentes en la mayoría de las gramíneas, y muestran diversas respuestas en relación al pastoreo. Esto podría deberse a la combinación de acciones y efectos que implica el pastoreo, los cuales no han sido estudiados aun en forma aislada.

En este trabajo se estudiaron los efectos del pastoreo sobre la colonización de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en *P. dilatatum*. Para ello se analizaron los efectos de los componentes del pastoreo en forma combinada y aislada (pisoteo, deyecciones y selectividad) sobre la intensidad de micorrización arbuscular y el porcentaje de estructuras fúngicas en *P. dilatatum*.

La investigación se llevó a cabo en un área experimental clausurada al pastoreo y en un área contigua pastoreada, ambas pertenecientes a un mismo potrero, en la región centro-sur de Uruguay. Se establecieron 36 parcelas de 1.6 x 1.6 m en el área clausurada durante un período de cuatro años, donde se asignaron los tratamientos experimentales al azar. El experimento, instalado en el año 2007, fue de tipo factorial

manipulativo con tres factores experimentales que simularon tres de los efectos desglosados del pastoreo: pisoteo, deyecciones y selectividad. Cada factor presentó dos niveles, resultando un total de ocho tratamientos que fueron aplicados en parcelas excluidas al pastoreo. Además se muestrearon parcelas de referencia con pastoreo y excluidas al pastoreo. Se realizó un muestreo único de raíces de *P. dilatatum*, de cada una de las parcelas en época estival (marzo 2010), cuando la especie presenta mayor actividad.

Los resultados muestran que *P. dilatatum* presenta altos niveles de colonización por HMA en todos los tratamientos. El análisis de las estructuras fúngicas mostró que en situación de clausura las plantas de *P. dilatatum* presentaron mayor presencia de ovillos y menor presencia de arbusculos. Ambas estructuras, ovillos y arbusculos, representan zonas de intercambio entre los HMA y la planta, aunque presumiblemente correspondan a especies de HMA diferentes. El análisis desglosado de los efectos del pastoreo presentó un efecto negativo del pisoteo sobre la presencia de vesículas (estructuras de almacenamiento de los HMA). El porcentaje de colonización por ovillos aumentó con el tratamiento de selectividad y disminuyó con el de deyecciones. El aumento de la presión de pastoreo sobre *P. dilatatum* (tratamiento de selectividad) podría relacionarse con la mayor colonización de ovillos para aumentar el abastecimiento de nutrientes a las plantas. La fertilización realizada para simular las deyecciones incrementaría la disponibilidad de nutrientes en el suelo, lo que llevaría a disminuir la necesidad de las plantas de las interacciones micorrícicas.

AT7_008 USING AN ILLUMINA SEQUENCING APPROACH TO PINPOINT A NODULATION QTL IN *Lotus Japonicus*

Jin, Haojie¹; Rodríguez Navarro, Dulce Nombre²; Temprano, Francisco²; Sandal, Niels¹; Sainz, Jose Ruiz³; Andersen, Stig U.¹; Stougaard, Jens¹

¹ Centre for Carbohydrate Recognition and Signalling (Dinamarca); ² Centro-Las Torres-Tomejil (IFAPA) (España); ³ Universidad de Sevilla (España)
rsainz@us.es

Different lotus species and accessions vary in their compatibility with rhizobial strains. *Sinorhizobium fredii* forms fully functional nodules with *Lotus burttii* but no nodules at all with *Lotus japonicus* Gifu. To identify the underlying genetic components, we first phenotyped 200 Gifu x *L. burttii* recombinant inbred lines (RILs), and QTL analysis of the RIL data showed a significant peak on chromosome 1.

To allow high-resolution mapping of the causal genetic allele through analysis of a large number of recombination events, we have phenotyped 2,000 F2 individuals from an Gifu x *L. burttii* cross and pooled tissue from the extreme phenotypic individuals. These pools will now be subjected to Illumina sequencing and SHOREmap analysis (1). In anticipation of a large number of inter-parental polymorphisms even in a narrow candidate region, we are currently phenotyping a set of 100 *Lotus japonicus* accessions. DNA extracted from these accessions will be barcoded and the candidate region will be sequenced in all accessions by targeted re-sequencing, allowing causal allele identification by combined linkage mapping and local association mapping.

AT7_009 DINÁMICA POBLACIONAL DE BACTERIAS ENDÓFITAS ASOCIADAS A CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum* L.) EN PLANTAS SENSIBLES Y RESISTENTES A *Leifsonia xyli* SUBSP. *xyli*, AGENTE CAUSAL DEL RAQUITISMO DE LAS SOCAS (RSD).

Adalgisa Thayne, Munhoz Ramos¹; Beracochea, Martín²; Battistoni, Federico²; Aranha Camargo, Luis Eduardo¹

¹ Laboratorio de Genética Molecular. Departamento de Fitopatología. Escuela Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidad de San Pablo. Piracicaba. Brasil (Brasil); ² Laboratorio de Bioquímica y Genómica Microbianas, IIBCE, Montevideo, Uruguay (Uruguay)
beracochea@gmail.com

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es uno cultivo multipropósito de gran importancia mundial. A partir del mismo se produce azúcar, alimento animal bioetanol y energía. Este cultivo sufre de varias enfermedades. Una de las más importantes es el raquitismo de las socas (RSD) la que puede ocasionar pérdidas de producción superiores al 50% dependiendo de la variedad, condiciones ambientales y presencia de otros patógenos. El agente causal del RSD es la bacteria Gram positiva *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx), la cual coloniza los vasos de xilema de la planta obstruyéndolos, debilitando así a la planta. Hasta el presente se desconoce el impacto de la colonización de los tejidos vegetales por parte de Lxx sobre la comunidad bacteriana endófito total. El objetivo del presente trabajo es el estudio de la diversidad bacteriana endófito total en caña de azúcar crecidas en condiciones de estrés hídrico (condiciones propensas para que se desarrolle la RSD). Para esto, se llevó a cabo un ensayo con 2 variedades de caña de azúcar RB 83-5486 (resistente a RSD) y CB 49-260 (patrón de sensibilidad RSD) bajo distintas condiciones de riego. La diversidad endófito-bacteriana se estudiará mediante la técnica DGGE. Para esto se aisló el ADN total de hojas de plantas sometidas a 4 tratamientos diferentes en invernáculo: 1) déficit hídrico, 2) con herida mecánica en el tallo, 3) déficit hídrico y herida mecánica y 4) plantas control (sin

herida ni estrés hídrico). A los 30 y 75 días post-siembra se realizaron colectas de la hoja +1 de cada planta. En primera instancia se realizaron PCR con cebadores específicos para una porción del gen de la subunidad ribosomal 16S. Los productos obtenidos a partir de las PCR se analizarán mediante una electroforesis en gel de gradiente denaturalizante (DGGE) con el fin de determinar la diversidad. Las bandas de interés serán clonadas y secuenciadas con el fin de identificar los aislamientos y su relaciones filogenéticas. Resultados de esta aproximación serán presentados.

AT7_010 INFLUENCIA DEL CADMIO SOBRE LA INTERACCIÓN SIMBIÓTICA *Bradyrhizobium* SP.-MANÍ

Bianucci, Eliana¹; Tordable, María del Carmen¹; Fabra, Adriana¹; Sobrino-Plata, Juan²; Hernández, Luis Eduardo²; Carpena, Ramón³; Castro, Stella¹

¹ Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km. 601. 5800, Río Cuarto, Córdoba, Argentina (Argentina); ² Laboratorio de Fisiología Vegetal, Departamento de Biología (España); ³ Departamento de Química Agrícola. Universidad Autónoma de Madrid, Campus de Cantoblanco, 28049, Madrid, España (España)
scastro@exa.unrc.edu.ar

Los microorganismos y las plantas en su ambiente natural están expuestos a diferentes contaminantes ambientales como los metales pesados. Entre ellos, el cadmio (Cd) es uno de los más tóxicos, aún a bajas concentraciones. En los suelos agrícolas, el Cd es incorporado a través de la aplicación de fertilizantes fosfatados, y algunos de sus efectos deletéreos en plantas están relacionados con la clorosis, la inhibición del crecimiento y el daño oxidativo a biomoléculas. El maní (*Arachis hypogaea* L.) es una leguminosa de alto valor agronómico en Argentina y su contaminación con Cd ocasionaría no sólo grandes pérdidas económicas sino también graves problemas sanitarios. Con el propósito de evaluar los efectos del Cd sobre el crecimiento y la nodulación en plantas de maní, se sembraron semillas (cultivar Granoleico) pregerminadas en macetas con perlita, como sustrato inerte, y se regaron con solución nutritiva de Hoagland suplementada con Cd (0 y 10 µM). Las plantas se inocularon con una suspensión (1x10⁹ UFC/ml) de la cepa sensible *Bradyrhizobium* sp. SEMIA6144 (capaz de crecer hasta 10 µM Cd) ó de la cepa tolerante *Bradyrhizobium* sp. NLH25 (capaz de crecer hasta 30 µM Cd). A los 30 días post-inoculación, las plantas se cosecharon observándose una disminución en el crecimiento de la parte aérea, indistintamente de la cepa con la que se hayan inoculado las raíces. El número y peso seco de nódulos disminuyó significativamente respecto a los controles, siendo aún más afectados aquellos nódulos formados por la cepa sensible al Cd. Los nódulos de las raíces inoculadas tanto con la cepa sensible como con la tolerante presentaron similar contenido del metal y un incremento en la producción de especies reactivas del oxígeno (anión superóxido y peróxido). Por otra parte, este metal produjo no sólo alteraciones morfológicas sino que también una disminución significativa del tamaño de la zona de infección de nódulos. En conclusión, el Cd impacta negativamente en el proceso de nodulación de las plantas de maní siendo más afectada la interacción simbiótica establecida con la cepa sensible al metal.

AT7_011 ESTUDIOS DE MOVILIDAD EN CEPAS DE RIZOBIOS NODULANTES DE MANÍ

Vicario, Julio¹; Dardanelli, Marta¹; Giordano, Walter¹

¹ UNRC (Argentina)
mdardanelli@exa.unrc.edu.ar

El éxito de los inoculantes de rizobios en la nodulación de sus leguminosas hospedadoras, frecuentemente depende de su habilidad de competir con cepas nativas del suelo. De los diferentes tipos de movilidad los de mayor importancia en el suelo son el swimming el cual representa la capacidad de los microorganismos de moverse a través de los canales de agua o medios líquidos y el swarming el cual representa el movimiento en la superficie sólida. La inoculación en semilla de maní (*Arachis hypogaea* L.) con cepas de referencia y nativas de *Bradyrhizobium* spp., suele resultar en una baja ocupancia de nódulos debido a su pobre movilidad y a la amplia distribución de rizobios nativos en el perfil del suelo, que les permite formar nódulos sobre la totalidad del sistema radical. La inoculación directa del suelo previo a la siembra, denominada inoculación en surco, presenta ciertas ventajas en relación a la inoculación en semilla, ya que ubica células viables en el perfil del suelo permitiendo una mejor infección del sistema radical de la leguminosa.

El objetivo de este trabajo fue evaluar si la escasa movilidad bacteriana es el condicionante para la falta de respuesta cuando la bacteria se inocula en la semilla. Para ello se realizaron ensayos de movilidad en medio YEMA y Agar agua para las cepas recomendadas de *Bradyrhizobium* C145, SEMIA6144 y USDA4438 y las nativas 15A y Pc34. La concentración de agar para todos los ensayos de swimming fue de 0,3% y para todos los ensayos de swarming fue de 0,5%. Las diferentes cepas utilizadas se sembraron por picadura en el centro de la placa con un ansa de punta. Todos los microorganismos utilizados provenían de placas de 8 días de crecimiento en medio YEMA. Al cabo de 8 días de incubación a 28 °C se determinó el diámetro del halo de movilidad.

Se pudo observar que en los ensayos de swimming las cepas USDA4438 y Pc34 fueron las que presentaron mayores halos en Agar agua mientras que 15A y USDA4438 fueron las de mayor movilidad en YEMA. En los ensayos de swarming cuando se utilizó Agar agua no se observaron diferencias entre ninguna de las cepas, mientras que con el medio YEMA la cepa Pc34 presentó una reducida movilidad en comparación con las otras bacterias. Muchos microorganismos muestran una respuesta variable en los diferentes tipos de movilidad, asociando dicha respuesta a la producción de moléculas de superficie, a la formación de biofilm o al fenómeno de *quorum sensing*. Estas y otras características fisiológicas y genéticas pueden ser las responsables de la respuesta diferencial que mostraron los rizobios simbioses de maní en este estudio.

AT7_012 CAMBIOS REDOX TEMPRANOS SISTÉMICOS EN LA INTERACCIÓN SOJA (*Glycine max* L.) - *Bradyrhizobium japonicum*

*Deanna, Rocío*¹; *Muñoz, Nacira*¹; *Rodríguez, Marianela*¹; *Robert, Germán*¹; *Lascano, Ramiro*¹

¹ Instituto de Fitopatología y Fisiología vegetal (INTA) (Argentina)
rociodanna@gmail.com

En las últimas décadas muchos de los complejos mecanismos locales que participan en la asociación rizobio-leguminosa han sido dilucidados. Conjuntamente con los efectos locales de la inoculación, existe una señalización sistémica hacia la parte aérea del vegetal que no ha sido descrita detalladamente en estadios tempranos de la infección por el simbiote. Como parte de los efectos sistémicos, los rizobios son considerados promotores del crecimiento en plantas (PGPRs) al generar resistencia sistémica inducida (ISR). En el transcurso de la ISR, muchas vías de acción de las especies activas de oxígeno (EAO) son promovidas influenciando la expresión de enzimas antioxidantes, cambios en el estado redox celular, respuestas hormonales y la activación del metabolismo secundario, incrementando la actividad de enzimas de la ruta de los fenilpropanoides inducida por etileno.

El objetivo de este estudio fue analizar los cambios sistémicos en el estado redox durante la interacción soja *Glycine max* (L.) - *Bradyrhizobium japonicum* en los primeros estadios post-inoculación. Para determinar estos cambios se utilizaron plantas de soja (*Glycine max* L. DM480) de 12 días de edad y se inocularon con *B. japonicum* USDA138. Se utilizó la primer hoja trifoliada para las determinaciones a diferentes tiempos post-inoculación (15, 30, 60 y 120 minutos post-inoculación). Los resultados obtenidos muestran un incremento significativo de ión superóxido en plantas inoculadas a los 30 minutos post-inoculación y también incrementos significativos en el contenido de peróxido de hidrógeno a los 30, 60 y 120 minutos post-inoculación. Asimismo se observó una activación del sistema antioxidante no enzimático a los 30 minutos post-inoculación que incluye, disminución en la relación glutatión reducido/total e incremento del ácido ascórbico total. Con respecto al sistema antioxidante enzimático se observó un incremento significativo de actividad catalasa (CAT), glutatión reductasa (GR) y ascorbato peroxidasa. Por otra parte, la actividad de MnSOD y CuZnSOD se incrementó a los 30 minutos post-inoculación en plantas inoculadas. Interesantemente se observó en hojas, un incremento en la actividad de fenilalanina amonio-liasa (PAL) luego de la inoculación con *B. japonicum*, indicando la activación de rutas claves en el metabolismo secundario de las plantas, que podría ser componente de respuestas sistémicas tipo PGPR. Nuestros resultados muestran cambios redox rápidos y sistémicos en soja luego de la inoculación, conjuntamente con una activación del metabolismo secundario, sugiriendo la ocurrencia de respuestas sistémicas oxidativas producto de la percepción de *B. japonicum*.

AT7_013 POTENCIAL APLICACIÓN DE BACTERIA PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO EN PLANTAS, UTILIZADAS PARA LA ESTABILIZACIÓN DE RELAVES O SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS.

*Gallardo Benavente, Carla*¹; *Viscarra Alvarez, Tamara*¹; *Barra Sanhueza, Barbara*¹; *Peña Astorga, Nelson*¹; *Mendoza Cid, Daniela*¹; *Espinoza Burgos, Constanza*¹; *Pradel Gonzalez, Osvaldo*¹; *Parada Ibañez, Maribel*¹

¹ Universidad de La Frontera (Chile)
constanzaespinozab@gmail.com

Recuperar suelos contaminados con metales pesados ha sido un tema de interés en el último tiempo en nuestro país, tras los problemas medioambientales que existen en lugares como Arica y Puchuncaví, en donde tanto el ecosistema como la vida de las personas se han visto fuertemente afectadas. En este contexto la Biotecnología se hace fundamental para llegar a la solución de este tipo de problemas. Para ello el estudio de PGPRs como bioinóculo en ambientes hostiles, se observa como una buena alternativa, ya que puede solucionar los inconvenientes registrados a través de la estabilización de relaves o suelos contaminados con metales pesados que no sobrepasan las concentraciones máximas admitidas. Con este propósito, nos planteamos la necesidad de buscar microorganismos capaces de sobrevivir a altas

concentraciones de metales pesados, específicamente plomo (Pb), para lo cual se seleccionó a partir de 91 cepas bacterianas pertenecientes a la Región de La Araucanía, 6 cepas clasificadas como bMBTs: 23, 34, 35, 36, 42 y 90 las cuales muestran una gran capacidad de tolerar altas concentraciones de nitrato de plomo Pb(NO₃)₂, y además resisten condiciones extremas de temperatura y nutrición. Estas cepas fueron sometidas a una prueba de promoción de crecimiento en *Lactuca sativa* (lechuga) en donde se observó un notorio crecimiento en todas las plantas inoculadas, con diferencias mínimas de 1,05 cm y una máxima de 2,73 cm de crecimiento sobre el control. Simultáneamente a este trabajo se realizó un ensayo de hipersensibilidad utilizando *Pelargonium hortorum* (cardenal), el que se evaluó a las 48 horas y a los 7 días después de la inoculación, sin presentar síntomas de necrosis o cambios visibles, por lo que se sugiere que las cepas bMBTs no serían patógenas vegetales. Los resultados del crecimiento bacteriano a distintas temperaturas (4, 15, 28, 37, 42, 46 y 60°C), mostró que las cepas bMBTs crecieron hasta los 42°C, excepto las cepas bMBT42 que solo creció hasta los 28°C, a 4°C el crecimiento de las cepas bMBT23 y bMBT90, se observa claramente disminuida. Actualmente se trabaja en un ensayo *in vivo* con la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, para probar que las cepas bMBTs le confieren tolerancia cuando están sometidas a estreses por plomo, la cual sería mediada por su capacidad PGPR, la que se evaluará en primera instancia mediante los cambios fenotípicos observados durante el ensayo. La identificación de las cepas se realiza mediante técnicas de Biología molecular como la PCR 16s.

AT7_014 PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO EN PLANTAS DE LECHUGA INOCULADAS CON *Azospirillum brasilense* Y SOMETIDA A CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO Y DE TRANSPLANTE

*Fasciglione, Gabriela*¹; *Casanovas, Mabe*²; *Yommi, Alejandra*³; *Carrozi, Liliana*²; *Quillehauquy, Victoria*³; *Barassi, Carlos*²

¹ Becaria CONICET (Argentina); ² Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP (Argentina); ³ INTA Balcarce (Argentina)
gabrielafasciglione@yahoo.com.ar

La necesaria extensión de la frontera agrícola mundial apunta a las regiones donde la salinidad del suelo y/o el agua disponible son factores limitantes del crecimiento vegetal, lo cual demanda nuevos enfoques científico-tecnológicos. Dentro de estos últimos, la inoculación con microorganismos promotores del crecimiento vegetal, como los del género *Azospirillum*, constituye una herramienta valiosa para aliviar el estrés de las plantas. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la inoculación de semillas con *A. brasilense* sobre el establecimiento, crecimiento, y contenidos de ácido ascórbico (AA) y clorofila (CL) en *Lactuca sativa* cv. Elisa, creciendo en invernáculo bajo condiciones normales y de salinidad. Semillas de lechuga tratadas con buffer fosfato (C), ó con 10⁹ células de *A. brasilense* Sp245.semilla⁻¹ (I), fueron sembradas en bandejas de germinación y regadas con soluciones 0 ó 40 mM de NaCl, determinándose el porcentaje de emergencia (PE) y los pesos secos aéreo (PSA) y de raíz (PSR) en las plántulas obtenidas. Cuarenta y cinco días después de la siembra (dds), las plántulas C é I provenientes de los tratamientos 0 y 40 mM NaCl fueron transplantadas a macetas, recibiendo hasta la cosecha (95 dds) las concentraciones de NaCl respectivas. A los 65 dds se evaluó la supervivencia al transplante, mientras que el área foliar (AF), el peso fresco aéreo (PFA), el PSR y el contenido de CL se determinaron a los 70 dds y a cosecha, añadiendo en este último caso el contenido de AA. A 0 mM NaCl el PE de las semillas I superó al de las C: a los 10 dds en un 23% y a los 30 dds en un 18%, este último acompañado de aumentos en el PSA y el PSR. Al momento del transplante, estos parámetros alcanzaron valores 36% y 32% mayores que sus respectivos controles. Siempre en ausencia de sal, todas las plantas sobrevivieron al estrés de transplante luego de 20 días de efectuado el mismo (65 dds). Además, a los 25 días (70 dds) las plantas I mostraron incrementos en el PFA (22%), AF (19%), PSR (50%) y el contenido de CL (31%) por sobre las C. A cosecha, el PF y el contenido de AA de las plantas de lechuga I creciendo a 0 mM NaCl superó a las C en un 14% y 43%, respectivamente. A 40 mM NaCl, la supervivencia de las plantas I superó en un 8% a las C y a cosecha, la inoculación incrementó no solamente el PF (20%) y el contenido de AA (19%), sino también el PSA (50%), el AF (39%) y el contenido de CL (19%), todo ello respecto de los controles sin sal.

AT7_015 REQUIREMENT OF AN INTACT LPS-INNER CORE FOR THE ESTABLISHMENT OF A FUNCTIONAL SYMBIOSIS BETWEEN *Bradyrhizobium japonicum* AND *Glycine max*.

*Ferrari, Walter*¹; *Rossi, Fernando*¹; *Principe, Analia*¹; *Castro, Marina*¹; *Medeot, Daniela*¹; *Rivero, Romina*¹; *Cendoya, Eugenia*¹; *Lagares, Antonio*²; *Jofré, Edgardo*¹

¹ Departamento de Ciencias Naturales, FCEFOyN, Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² IBBM Universidad Nacional de La Plata (Argentina)
wferrari@exa.unrc.edu.ar

The soil bacteria known as rhizobia can establish a nitrogen-fixing symbiosis with their host legumes plant, resulting in the formation of nodules where atmospheric nitrogen is fixed into ammonia. Nodule development is a complex process where bacterial cell surface components play an important role in this specific interaction. One of these rhizobial components is the Lipopolysaccharide (LPS) which consist of lipid A, core oligosaccharide and distal polysaccharide (O antigen). It has been shown in several rhizobia that alterations in the LPS structure result in a defective nodulation. In *Rhizobium leguminosarum* the *lpcC* gene encodes a glycosyltransferase (LpcC) involved in the inner core biosynthesis of the LPS. Previous report demonstrated that *lpcC* mutants affected in the LPS-inner core from *Rhizobium leguminosarum*, are unable to form functional nodules on *Pisum sativum*. Moreover, mutants in the ortolog gene (*lpsB*) from *Sinorhizobium meliloti* produce nodules unable to fix nitrogen on *Medicago truncatula*. Complementation studies show that *lpsB* gene from *S.meliloti* was able to complement the *lpcC* mutation of *R. leguminosarum*. However, the *lpcC* gene from *R leguminosarum* did not restore the symbiotic deficiency of *S. meliloti lpsB* mutant. Interestingly, the *LpcC* protein is widely conserved in others α - proteobacteria symbionts such as *S. meliloti*, *B. japonicum*, *Mesorhizobium loti* among others, as well as in the plant and human pathogens *Agrobacterium tumefaciens*, *Bruceella melitensis* and *Bartonella hensellae*. In this study we evaluated the role of LpcC form *B. japonicum* during the establishment of the symbiosis with soybean plants. The *B. japonicum lpcC* mutant was generated by site-directed plasmid integration, this mutant showed an altered LPS pattern as compared with the wild-type strain, suggesting that LpcC is required for LPS synthesis. Heterologous complementation with *lpcC* from *R. leguminosarum*, *A. tumefaciens* and *rfaC* from *M. loti* restored the wild-type LPS profile. Nevertheless, *lpsB* from *S. meliloti* was unable to restore the wild-type LPS profile. Nodulation assays on *Glycine max* plants showed that the *B. japonicum lpcC* mutants as well as the *lpsB*-complemented strain were unable to form nodules on *Glycine max* roots; whereas, the *lpcC* mutant complemented with *lpcC* from *R. leguminosarum*, *A. tumefaciens*, and *rfaC* from *M. loti* were able of restoring the nodulating phenotype. The results confirm the requirement of an intact LPS for an effective nodulation of *Glycine max* by *B. japonicum*, and suggest the existence of a functional diversity despite the high degree of conservation among these proteins.

AT7_016 PROPAGACIÓN *in vitro* DE *Handroanthus ochraceus* UTILIZANDO *Azospirillum brasilense* DURANTE LA RIZOGÉNESIS

*Alasia, Maria Anyelen*¹; *Larraburu, Ezequiel Enrique*¹; *Llorente, Berta Elizabeth*¹

¹ CULTEV, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján (Argentina)
eze1031@yahoo.com.ar

El lapacho amarillo (*Handroanthus ochraceus*) es una especie ornamental, maderable y medicinal. La importancia de conservar especies nativas, la baja disponibilidad y viabilidad de semillas y las dificultades en la reproducción vegetativa por métodos convencionales hace que sea de interés desarrollar técnicas que permitan la propagación masiva. El objetivo de este trabajo es estudiar la micropropagación del lapacho amarillo utilizando *Azospirillum brasilense* durante la rizogénesis. Los cultivos se iniciaron a partir de semillas germinadas *in vitro* obteniendo un 72,5% de plántulas. La tasa de multiplicación promedio de los epicotiles cultivados en medio Woody Plant Medium (WPM) suplementado con 20 μ M de benzilaminopurina 1 μ M de ácido indolbutírico fue 3,90. La inducción de raíces se realizó utilizando los medio WPM y Murashige-Skoog (MS) con sales a mitad de concentración e inoculando la base de los brotes con las cepas Cd y Az39 de *Azospirillum brasilense*. Los resultados obtenidos fueron analizados por ANOVA factorial y comparación múltiple de medias (Tukey $p < 0,05$). Az39 produjo incrementos significativos en el porcentaje de enraizamiento de *H.ochraceus* en WPM mientras que en MS, la inoculación con la cepa Cd generó una disminución, respecto a los controles. El análisis factorial de varianza mostró que el número de hojas fue afectado por la bacterización, el medio y la interacción entre ambos. En este sentido, este parámetro se incrementó un 108% en WPM inoculado con *A.brasilense* Cd. Respecto a los parámetros de crecimiento y desarrollo de raíces, la adsorción radicular resultó significativamente afectada por la bacterización y la interacción medio-bacteria, aunque esto no se tradujo en diferencias significativas. Por otra parte, el medio y la interacción de los factores afectaron significativamente la longitud de raíz. Los vástagos inoculados con

la cepa Az39 mostraron incremento del 124% en la longitud de sus raíces al cultivarlos en el medio WPM con respecto a los crecidas en MS. Además, medio, bacterización y su interacción influyeron sobre el peso seco. En consecuencia, los brotes cultivados en WPM e inoculados con *A.brasilense* Cd presentaron un incremento significativo (77%) respecto al control y a todos los tratamientos en MS. En el medio WPM no se observaron diferencias entre los brotes inoculados con las distintas cepas de *A.brasilense*. En conclusión, un 40-50% de brotes de *H.ochraceus* enraizaron sin la aplicación de auxinas exógenas en los medios MS y WPM a mitad de concentración. La inoculación con *A.brasilense* modificó el porcentaje de plantas enraizadas y los parámetros productivos dependiendo del tipo de medio y de la cepa bacteriana. Dado que no existen trabajos previos sobre la micropropagación de *H.ochraceus*, este trabajo constituye un aporte a la propagación *in vitro* de esta especie utilizando bacterias rizosféricas.

AT7_017 INDUCCIÓN DE LA RIZOGÉNESIS *in vitro* DE LAPACHO ROSADO: USO DE LA INOCULACIÓN CON *Azospirillum brasilense* EN DIFERENTES FORMULACIONES DE MEDIOS DE CULTIVO.

*Larraburu, Ezequiel Enrique*¹; *Apóstolo, Nancy Mariel*¹; *Llorente, Berta Elizabeth*¹

¹ CULTEV, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján (Argentina)
eze1031@yahoo.com.ar

Handroanthus impetiginosus "lapacho rosado" es un árbol nativo de Argentina ampliamente utilizado como ornamental. Además, es un conocido recurso maderable y posee propiedades medicinales. Esta especie presenta dificultades en la reproducción por semillas y por estacas. Por ello es importante el desarrollo de técnicas *in vitro* que permitan su propagación masiva. Con el finde optimizar la micropropagación de la especie, en este trabajo se estudia el efecto de la inoculación bacteriana en diferentes formulaciones de medios de cultivos durante la crucial etapa de la rizogénesis *in vitro*. Debido a que *A.brasilense* es reconocida como bacteria promotora de crecimiento vegetal se han utilizado las cepas Cd y Az39 para la realización de estos ensayos. Microestacas de lapacho rosado cultivado *in vitro* de 2 a 3cm de longitud fueron inducidas durante 3 días en medio Woody Plant (WPM) a mitad de concentración suplementado con diferentes concentraciones de ácido indol butírico (IBA): 0; 10;30 y 50 μ M. Posteriormente, fueron cultivadas en dos tipos de medios básicos, WPM y murashige-Skoog (MS) a la mitad de concentración, ambos libres de auxinas. Cada microestaca, una vez transferida, fue inoculada en su base con *A.brasilense* Cd o A39 (10⁷ ufc). Se utilizaron como controles estacas cultivadas bajo el mismo procedimiento pero sin inocular. El cultivo fue mantenido en cámara aclimatizada a 26 \pm 2°C con fotoperíodo 16Hs luz durante 40 días. Al final del ensayo se evaluaron el porcentaje de enraizamiento, el número de hojas, la longitud del tallo principal, el número de raíces, la longitud de la raíz principal, el área radical, los pesos fresco y seco de vástago y de raíces. Los resultados obtenidos fueron analizados por ANOVA factorial (Factor medio con 2 niveles; Factor Bacterización con 3 niveles y Factor concentración de auxinas con 4 niveles) y comparación múltiple de medias (Tukey $p < 0,05$). Independientemente de los parámetros de raíz analizados y de la concentración de auxina, el medio MS mostró valores significativamente mayores que los observados en los tratamientos con medio WPM, excepto en el porcentaje de enraizamiento. En los medios libres de bacterias, principalmente MS se puede observar el efecto de la concentración hormonal, obteniéndose mayores valores de los parámetros analizados en IBA 50 μ M. Se observa significancia en la interacción de los factores y por lo tanto la respuesta de las bacterias se ve afectada por la naturaleza del medio básico y la concentración de auxina aplicada. Sin embargo, para el porcentaje de enraizamiento, la inoculación bacteriana mejora significativamente la cantidad de brotes enraizados llegando a aproximadamente un 80%. Para los parámetros de vástagos de los tratamientos en medio MS *A.brasilense* Az39 se manifiesta en ausencia de inducción hormonal y muestra inhibición a medida que aumenta la concentración de auxinas. Mientras que la cepa Cd muestra mayor efecto en presencia de auxina.

AT7_018 *Azospirillum brasilense* EN LA RIZOGÉNESIS *in vitro* DE JOJOBA EN CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO

*Gonzalez, Ana Julia*¹; *Larraburu, Ezequiel Enrique*¹; *Llorente, Berta Elizabeth*¹

¹ CULTEV, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján (Argentina)
eze1031@gmail.com

Simmondsia chilensis (Link) Schn. "jojoba" es un arbusto dioico de donde se extrae una cera líquida que es utilizada en la industria de lubricantes y cosmética. Es una especie tolerante a la sequía que constituye un cultivo alternativo en zonas áridas o semiáridas. La bacteria rizosférica *Azospirillum brasilense* ha sido ampliamente utilizada como promotora del crecimiento vegetal reduciendo así el uso de agroquímicos y la contaminación ambiental.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de las cepas Cd y Az39 de *A. brasilense* en la rizogénesis de jojoba bajo condiciones de estrés salino utilizando técnicas de

cultivo *in vitro*. Se utilizaron brotes de 2cm provenientes del medio Murashige-Skoog con vitaminas de Gamborg, 3% sacarosa, 0,7% agar (MB) y 4,44 μ M bencilamino purina. La inducción de raíces se realizó en MB con sales a mitad de concentración (MR) suplementado con ácido indolbutírico (24,6 ó 49,2 μ M) 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 la base con 10⁷ufc de las cepas Cd o Az39 de *A. brasilense*. Los controles fueron plantas sin inocular. Durante 45 días de cultivo se evaluó el porcentaje de enraizamiento. Al final del ensayo se determinaron pesos fresco y seco de parte aérea y de raíces, adsorción y longitud radicular, número de raíces, índice de crecimiento (valor final/ valor inicial) de tallo y número de hojas. Además se reaislaron las bacterias en medio con Rojo Congo para comprobar la viabilidad de las mismas. Los datos fueron analizados mediante ANOVA factorial y comparación múltiple de medias utilizando el programa SPSS. Los brotes inoculados con las cepas Cd y Az39 de *A. brasilense* mostraron mayores porcentajes de enraizamiento en todos los tratamientos respecto a sus controles. Además, los brotes inducidos con 24,6 μ M IBA y sometidos a 120mM NaCl presentaron porcentajes de enraizamiento similares a los obtenidos en controles con menores concentraciones de NaCl. La inoculación con ambas cepas también disminuyó el porcentaje de brotes con callo basal. Si bien no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para los otros parámetros evaluados, se observó que a altas concentraciones de NaCl se redujo el número promedio de raíces y la adsorción radicular en controles e inoculados. Al final del ensayo se comprobó la sobrevivencia de ambas cepas en todas las concentraciones de sal. En conclusión, las cepas Cd y Az39 de *A. brasilense* permiten el enraizamiento *in vitro* de mayor porcentaje de brotes de jojoba en medios salinos.

AT7_019 MUERTE DE PELOS RADICALES DE SOJA (*Glycine max*): EFECTOS DE LA INOCULACIÓN CON *B. japonicum* Y ESTRÉS ABIÓTICO.

Robert, Germán¹; Muñoz, Nacira¹; Melchiorre, Mariana¹; Lascano, Ramiro¹
¹IFFIVE-INTA (Argentina)
hrlascano@correo.inta.gov.ar

Trabajos previos de nuestro grupo detallan cambios en la generación apoplástica e intracelular de especies activas del oxígeno (EAO) en raíces inoculadas con *B. japonicum* y sometidas a estrés salino y/o osmótico. Dentro de este contexto se identificaron dos condiciones que indujeron muerte celular de pelos radicales jóvenes: raíces inoculadas tratadas con NaCl 50 mM (condición salina subletal) y no inoculadas tratadas con NaCl 150 mM, respectivamente. El objetivo de este trabajo es identificar diferencias entre los eventos de muerte celular que tienen lugar bajo estos tratamientos. Se evaluó viabilidad celular mediante la estimación de pérdida de potencial de membrana con Azul de Evans, degradación de ADN y se cuantificó MDA como parámetro de daño oxidativo. Asimismo, se determinó la generación intracelular de EAO, contenido de ATP y Glutatión (GSH). Los pelos radicales sometidos a dichas condiciones presentaron pérdida de selectividad de membrana, degradación de ADN y altos niveles de MDA. Sin embargo, mientras que en los pelos radicales de raíces inoculadas con *B. japonicum* y NaCl 50 mM se mantuvo la producción intracelular de EAO, los niveles de GSH y aumentaron los niveles de ATP; en aquellos sometidos a NaCl 150 mM hubo una disminución en la generación intracelular de EAO, en los contenidos de GSH y en los niveles de ATP.

Estos resultados sugieren una participación importante del estado redox celular en los mecanismos de muerte. Asimismo, inferimos la ejecución de una muerte de tipo *ordenada* para el tratamiento de *B. japonicum* y NaCl 50 mM y una muerte tipo *necrosis* en los tratamientos de NaCl 150 mM. Actualmente, estamos estudiando la participación de vías autofágicas bajo estas condiciones.

AT7_020 ANÁLISIS DEL MECANISMO INVOLUCRADO EN EL FENOTIPO SUCC⁺ DE UN MUTANTE *dctB* DE *Rhizobium tropici* CIAT899

Lima, Daniela¹; Gill, Paul. R¹; Batista, Silvia¹
¹ Unidad de Microbiología Molecular-Laboratorio de Ecología Microbiana. IIICE. Av. Italia 3318, Montevideo, (Uruguay)
daniela@iibce.edu.uy

Durante la simbiosis rizobio-leguminosa, la bacteria diferenciada como bacteroide, consume los nutrientes proporcionados por el hospedero y reduce el N₂ atmosférico a amonio, el cual es exportado a la planta. Los ácidos C₄-dicarboxílicos (ADCs) (malato, succinato y fumarato) son esenciales para el bacteroide como fuente de carbono y poder reductor. Estos ácidos ingresan a un ciclo de Krebs modificado, expresando vías *by-pass* en pasos sensibles al ambiente microaerófilo del nódulo, como la 2-oxoglutarato deshidrogenasa. El sistema de transporte de C₄-dicarboxilatos está codificado por *dctA*, que codifica para una permeasa DctA y *dctBD* que codifican para un sistema sensor-regulador de dos componentes, y que activan la transcripción de *dctA* en respuesta a C₄-dicarboxilatos. Los mutantes *dctA* no crecen en ADCs. *Rhizobium tropici* es capaz de nodular varias leguminosas incluyendo *Phaseolus*

vulgaris. Originalmente, un mutante *dctA* (GA1) derivado de la cepa de *R. tropici* CIAT899, creció en presencia de succinato pero no malato o fumarato como únicas fuentes carbonadas. Esto permitió identificar otros tres genes, organizados de forma similar a los genes *dct*, responsables del crecimiento de GA1 en succinato. Estos genes codifican para un sistema de transporte (Kgt) de 2-oxoglutarato y, con baja afinidad, puede también transportar succinato. La expresión de *kgtP*, que codifica para la permeasa, es controlada por otro sistema de dos componentes denominado KgtRS. El gen *kgtP* se induce por 2-oxoglutarato en CIAT899 y por succinato y 2-oxoglutarato en el mutante GA1.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos a partir de dos nuevos mutantes *dctB* derivados de las cepas CIAT899 y GA1. Estos dos mutantes exhibieron un fenotipo similar a GA1 en lo que refiere a su crecimiento en ADCs y fenotipo simbiótico Fix-. Se discute si esta expresión diferencial se explica como consecuencia del *cross-talk* de los dos sistemas DctBD y KgtRS en un contexto genómico mutante.

Financiación: PEDECIBA-Biología

AT7_021 CARACTERIZACIÓN DE LA COLONIZACIÓN DE DIFERENTES CULTIVOS POR *Burkholderia tropica*

Bernabeu, Pamela¹; Couyoupetrou, Manuel¹; Moyano, Damián²; Ferreyra, Gimena²; Guidi, Verónica²; Crespo, Juan Manuel¹; Galar, María Lina²; Valverde, Claudio³; Boiardi, José Luis²; Luna, Flavia¹
¹ CINDEFI-(UNLP; CCT-La Plata, CONICET), Facultad de Ciencias Exactas, CIC-PBA (Argentina);
² CINDEFI-(UNLP; CCT-La Plata, CONICET), Facultad de Ciencias Exactas (Argentina);
³ Universidad Nacional de Quilmes-CONICET (Argentina)
mafla@quimica.unlp.edu.ar

Existe una gran cantidad de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) con capacidad para mejorar el crecimiento de las plantas a través de la fijación biológica de Nitrógeno, la solubilización de nutrientes, la tolerancia a patógenos, etc.. Estos microorganismos pueden colonizar la rizosfera, la superficie de la raíz o el interior de ésta y establecerse como endófitos, siendo la habilidad de colonizar las raíces un factor determinante en la eficacia del inoculante. En la última década ha habido un interés creciente en los microorganismos endófitos, ya que al estar menos afectados por el estrés ambiental y establecer un intercambio directo de metabolitos con su hospedero, podrían representar una mayor ventaja ecológica. En una búsqueda de estrategias enmarcadas en el manejo sostenible de diferentes cultivos de interés agrícola, se evaluó la capacidad de colonización en tomate, colza y sorgo de un inoculante experimental a base de *Burkholderia tropica* Mto293, endófito fijador de Nitrógeno y con características de BPCV. Muestras de plantas inoculadas con *B. tropica* (marcada con el gen reportero *gfp*) y crecidas en condiciones gnotobióticas fueron tomadas a diferentes tiempos para monitorear la colonización por cuantificación en placa y localización por microscopía de fluorescencia. Se observó en todos los casos una extensa colonización de la superficie radical con un patrón de colonización en hileras sobre la unión de las células de la epidermis de la raíz. Como posibles sitios de ingreso a las raíces se registraron los pelos radicales, la zona de emergencia de raíces laterales y el ápice. Esto concuerda con la elevada población superficial en todas las plantas testeadas (~6-7 log CFU/g peso fresco). La población bacteriana endófito fue similar para los diferentes cultivos (5 log CFU/g peso fresco) y las partes aéreas también fueron eficientemente colonizadas (~4-5 log CFU/g peso fresco). Este estudio provee evidencias sobre la capacidad que tiene *B. tropica* de colonizar plantas distintas a su hospedador natural y de establecer asociaciones estables, al menos, bajo nuestras condiciones experimentales.

AT7_022 INTERACCIÓN ENTRE RIZOBIOS Y NO LEGUMINOSAS: EL GENOMA DE *Rhizobium etli* CH24-10 Y SU TRANSCRIPTOMA EN LA RIZÓSFERA DE MAÍZ

López-Guerrero, Martha G.¹; Acosta-Rojo, José Luis¹; Mendoza-Vargas, Alfredo²; Martínez-Romero, María Esperanza¹
¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Ciencias Genómicas (México);
² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biotecnología (México)
marsgl@ccg.unam.mx

Rhizobium etli es una bacteria capaz de establecer una interacción simbiótica con el frijol (*Phaseolus vulgaris*) (1). Bajo sistemas agrícolas tradicionales, se ha encontrado que los rizobios colonizan a las plantas no leguminosas que se siembran en rotación o intercultivo con su planta leguminosa hospedera (2, 3).

En México, el frijol se ha sembrado junto con el maíz, en un sistema tradicional conocido como milpa, cultivos que se cuentan entre los primeros en ser domesticados en esta región (4). Este sistema favorece que las raíces del frijol y del maíz crezcan juntas, por lo que se propone que su ambiente rizosférico es uno sólo. Bajo este sistema descubrimos que *R. etli* es un endófito natural del maíz y coloniza la rizósfera y el interior de raíces y tallos (5). En un estudio de diversidad de *R. etli* en el sistema agrícola de milpa y en monocultivos de maíz se encontró una cepa dominante en maíz,

R. etli Ch24-10, altamente competitiva para colonizar la rizósfera y el interior del maíz (6).

Se obtuvo la secuencia genómica de la cepa Ch24-10 utilizando las tecnologías, Genome Analyzer GALLx de Illumina y 454-FLX de Roche. El genoma está en proceso de ser cerrado. Observamos una mayor identidad con el genoma de la cepa CIAT652 (eficiente fijadora de nitrógeno), que con el de la cepa tipo CFN42, ineficiente en la fijación de nitrógeno y poco competitiva para colonizar maíz. Suponemos que los genes para la interacción con maíz se encontrarán en la cepa Ch24-10, aislada de maíz y no en aquellas aisladas de nódulos de frijol.

Proponemos que los genes que se han seleccionado por conferir una ventaja en la interacción con el maíz serán parte del patrón de expresión de R. etli Ch24-10 cuando crece en interacción con el maíz; por ello se obtuvo el transcriptoma de ésta cepa en rizósfera de maíz utilizando la tecnología RNA-seq con la misma plataforma de Illumina. Encontramos altamente expresados los genes que codifican para transportadores, catabolismo de aminoácidos y genes con función desconocida. Obtendremos mutantes en algunos de estos genes para probar su función en la colonización del maíz.

1. Martínez-Romero E (2003) Diversity of Rhizobium-Phaseolus vulgaris symbiosis: overview and perspectives. *Plant and Soil*. 252:11-23.
2. Youssef GY, et al. (1997) Natural endophytic association between Rhizobium leguminosarum bv. trifolii and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. *Plant and Soil*. 194: 99-114.
3. Sabry SRS, et al. (1997) Endophytic establishment of Azorhizobium caulinodans in wheat. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 264: 341-346
4. Smith DB (1997) The Initial Domestication of Cucurbita pepo in the Americas 10,000 Years Ago. *Science*. 276: 9
5. Gutierrez-Zamora ML & E Martínez-Romero (2001) Natural endophytic association between Rhizobium etli and maize (*Zea mays* L.) *J Biotechnol* 91:117-126.
6. Rosenblueth M & E. Martínez-Romero (2004) Rhizobium etli maize populations and their competitiveness for root colonization. *Arch Microbiol* 181:337-344

AT7_023 IMPACTO SOBRE EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE SOJA INOCULADAS CON *Bradyrhizobium japonicum* CULTIVADOS EN ESCASEZ DE NITRÓGENO

López, María Florencia¹; López García, Silvina¹

¹ Instituto de Biotecnología y Biología Molecular- CONICET- Dto de Cs Biológicas- Facultad de Cs Exactas- UNLP- Argentina (Argentina)
mfl@biol.unlp.edu.ar

El gran desarrollo del cultivo de soja en Argentina ha conducido a diversos estudios para optimizar su inoculación. Trabajos previos en nuestro laboratorio han demostrado un efecto estimulador de las etapas tempranas de la simbiosis con soja cuando *Bradyrhizobium japonicum* crece en escasez de N (López García, 2001). Dada la relevancia de esta interacción, nos propusimos analizar la influencia de la disponibilidad de N en cultivos de *B. japonicum* USDA110 sobre la fijación de N₂ en plantas de soja. Observamos que las plantas inoculadas con bacterias en escasez de N presentaron mayor número de nódulos que aquellas inoculadas con bacterias cultivadas en suficiencia de este nutriente, pero el peso seco de los mismos fue similar para ambas condiciones. Esto implicaría una menor tasa de fijación por nódulo para la condición de limitación de N. Dado que el N₂ fijado depende del número total de nódulos formados y de la efectividad de la cepa que los ocupa, los resultados sugieren que los rizobios limitados inducirían en la planta un mayor requerimiento de N. Notoriamente, las plantas inoculadas con las bacterias en escasez de N presentaron valores significativamente mayores de peso seco de parte aérea respecto al de las plantas inoculadas con bacterias con suficiencia de este nutriente. Esta evaluación indirecta de la fijación nos indicaría una mayor actividad fijadora de las bacterias limitadas en N, sin embargo, aún resta comprender el rol de esta limitación sobre la fijación.

Está reportado que los rizobios producen auxinas que pueden promover el crecimiento vegetal, beneficiando la simbiosis. Bacterias del género *Bradyrhizobium* (entre ellas *B. japonicum* USDA110, cepa de referencia) sintetizan ácido indolacético (AIA), el cual tendría un rol importante sobre la nodulación en soja, sugiriendo una acción promotora del crecimiento vegetal (Kaneshiro y Kwoleck, 1985; Fukuhara, 1994; Boiero, 2007). Nuestros resultados nos sugirieron una posible correlación con la producción diferencial de auxinas por parte de las bacterias dependiendo de su estado nutricional, por lo que realizamos la determinación de AIA en cultivos de rizobios reproduciendo las condiciones utilizadas para los inóculos. Sin embargo, en nuestras condiciones de medida no pudimos determinar la presencia de dicho compuesto en ninguno de los cultivos. Por lo tanto, esta auxina no sería responsable, en principio, de las diferencias de rendimiento en peso seco observadas, ni tampoco del fenotipo de mayor nodulación. De todos modos, se ha reportado que *B. japonicum* USDA110 también produce otras fitohormonas (como giberelinas, ácido abscísico) que podrían estar presentes en estos cultivos y ejerciendo la acción promotora del crecimiento. Aún resta determinar si la condición de limitación de N influye en dicha producción, mediante qué vía/s y, finalmente, cómo impacta sobre el cultivo de las leguminosas.

AT7_024 ROLE OF *Mesorhizobium loti* T3SS EFFECTORS AND CHAPERONE ON *Lotus tenuis* NODULATION.

Mercante, Virginia¹; Sánchez, Cintia Mariana¹; Lepek, Viviana C.¹

¹ Instituto de Investigaciones Biotecnológicas IIB-INTECH-UNSAM-CONICET (Argentina)
vmercante@ibintech.com.ar

Many Rhizobia are able to fix atmospheric nitrogen in symbiotic interactions with legumes plants. To achieve this interaction, bacteria must be able to evade the plant immune system. This evasion is often coordinated by the Type III secretion system (T3SS), which is a multiprotein complex through which effectors proteins are delivered into the host cell where they modulate cellular functions such as defence response. *Mesorhizobium loti* has a functional T3SS that is positively involved in the nodulation process on *Lotus* spp.

Previously we have detected three new putative *M. loti* T3SS effectors (Mr6358, Mr6331, and Mr6361). *M. loti* also has a protein (Mr6316) with homology to NodD, a T3SS effector described in other rhizobia.

Competitive assays, using single, double and triple mutants of those genes indicated that the protein codified by mlr6316 favoured nodulation on *Lotus tenuis* and that this effect was boosted by proteins codified by mlr6358, and mlr6361. On the other hand, a triple mutant in Mr6358, Mr6361, and Mr6316 genes was more severely affected in its competitiveness than a mutant affected in the functionality of the T3SS machinery. This result suggests that a balance between positive and negative effects of the different effector proteins, determines the final outcome of the T3SS role on nodulation. Frequently, each secreted substrate requires a dedicated small, non-secreted cytoplasmic chaperone for their efficient secretion. Unlike traditional molecular chaperones, specialized T3SS chaperones do not assist in protein folding, they act as bodyguards to prevent premature aggregation and/or as pilots to direct substrate secretion through the correct T3SS.

We identified by *in silico* search a *M. loti* gene which codified for a putative chaperone, a small protein with tetratricopeptide repeats (*mlr8765*). We interrupt the *mlr8765* gene of *M. loti* with a gentamicin cassette by homolog recombination to avoid its function. In the analysis of protein secretion patterns of *M. loti* under induction of the T3SS genes, we observed that NopX (translocator) and NopA (pilus protein) were expressed but not secreted in the mutant strain. On the other hand, the mutant was less competitive in experiments of *L. tenuis* co-inoculated with the wild type strain. Secretion of the NopA protein is required for the normal secretion of the translocator protein; this is why we propose that *mlr8765* codified for a protein involved in NopA secretion. Double hybrid experiments are now being carried out to confirm the binding of *mlr8765* to NopA. At the moment, this is the first T3SS chaperon described in *Mesorhizobium loti*.

AT7_025 ROL DE SEÑALIZACIÓN MEDIADA POR FACTORES NOD EN EL SISTEMA ANTIOXIDANTE DE MANÍ.

Muñoz, Vanina¹; Ibañez, Fernando¹; Tordable, María del Carmen¹; Fabra, Adriana¹

¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina)
vmunoz@exa.unrc.edu.ar

Arachis hypogaea L. (maní) es una leguminosa de gran importancia agronómica que establece una asociación simbiótica fijadora de nitrógeno con bacterias del género *Bradyrhizobium*. Para que dicha interacción se establezca debe ocurrir un intercambio de señales. Los flavonoides producidos por la leguminosa huésped inducen en los rizobios la síntesis de moléculas señal denominadas factores Nod. En la interacción *Sinorhizobium meliloti*-alfalfa, los factores Nod estarían involucrados en la modulación de la respuesta de defensa vegetal, bloqueando el estallido oxidativo que se desencadena en la interacción con las bacterias. El objetivo de este trabajo fue determinar si los factores Nod sintetizados por *Bradyrhizobium sp.* cumplen un rol de señalización en el sistema antioxidante de maní, considerando que, a diferencia de lo que ocurre en alfalfa, en esta leguminosa la infección se desarrolla sin formación de hilos de infección (crack-entry). Raíces de plántulas de maní de 5 días fueron inoculadas con la cepa *Bradyrhizobium sp.* SEMIA 6144 o de *Bradyrhizobium sp.* V₂, cepa mutante afectada en la producción de factores Nod (Ibañez, 2009). Para la determinación cualitativa de producción de H₂O₂ y O₂⁻, la inoculación se efectuó localmente ("spot-inoculation"). Las raíces se extrajeron a los 0, 5, 10, 15, 30, 60 y 240 min postinoculación y se determinaron la actividad catalasa (Aebi, 1984) y superóxido dismutasa (Beauchamp y Fridovich, 1973). Se evaluó la producción cuantitativa y cualitativa de H₂O₂ y O₂⁻ (Alexieva y col. 2001, Orozco-Cárdenas y Ryan 1999, Frahy y Schopfer 2001). El análisis de la actividad catalasa en plantas inoculadas con la cepa salvaje reveló un pico de actividad a los 15 y 30 min postinoculación, mientras que no se observaron diferencias entre los valores obtenidos en raíces inoculadas con la cepa V₂ y sin inocular. La actividad superóxido dismutasa, en cambio, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Un incremento en la producción de H₂O₂ y de O₂⁻ se observó a los 5 min postinoculación con la cepa V₂, disminuyendo a los 240 min hasta alcanzar, en el caso de H₂O₂, los niveles basales. En raíces inoculadas con la cepa salvaje, un incremento en la concentración de H₂O₂ se observó a los 10 min

postinoculación, recuperando los valores basales a los 15 min. Estos resultados concuerdan con lo observado en las determinaciones cualitativas de H_2O_2 y O_2^- . En conjunto, los datos obtenidos sugieren que en la interacción maní-bradlirizobios el estallido oxidativo sería modulado por acción de factores Nod a través del incremento de la actividad de la enzima catalasa, ya que en raíces inoculadas con la cepa mutante este estallido se inicia más tempranamente y se prolonga más en el tiempo. La producción de H_2O_2 , aún en presencia de los factores Nod, podría relacionarse con el rol de molécula señal de estos compuestos, activando genes de expresión temprana en la interacción simbiótica. Subsidiado por: SECyT-UNRC, CONICET, MINCYT, ANPCyT.

AT7_026 ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN DE ENZIMAS DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE Y NADPH OXIDASAS EN PELOS RADICALES DURANTE LA INTERACCIÓN SOJA-*B. japonicum* BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO Y OSMÓTICO.

*Muñoz, Nacira*¹; *Rodríguez, Mariana*¹; *Robert, German*¹; *Melchiorre, Mariana*¹; *Deanna, Rocio*¹; *Lascano, Ramiro*¹
¹ Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal INTA (Argentina)
naciramunoz@yahoo.com

Objetivo del trabajo: Analizar los cambios redox y actividad y expresión del sistema antioxidante en pelos radicales de soja inoculados con *B. japonicum* bajo condiciones de estrés salino y osmótico.

Antecedentes previos del grupo de trabajo muestran que en etapas tempranas de la interacción simbiótica soja-*B. japonicum* USDA138 ocurren cambios diferenciales en la producción de especies activas de oxígeno (EAO) apoplásticas e intracelulares, que se ven afectadas bajo condiciones de estrés salino induciendo procesos de muerte celular en pelos radicales. Estas respuestas son diferenciales y similares al control bajo condiciones de estrés osmótico. El complejo de membrana plasmática NADPH oxidasa parece ser componente fundamental en la generación de radical superóxido apoplástico en etapas tempranas de la interacción, determinando la distribución espacial de esta especie reactiva de oxígeno sosteniendo del proceso de deformación de pelos radicales. Dado que estos cambios son parte de las respuestas de percepción y deformación de pelos radicales, alteraciones redox tempranas serían componentes claves en el sostenimiento del progreso de infección en condiciones control y la ausencia de infección bajo condiciones de estrés salino. Conjuntamente con las respuestas en producción de EAO, se han observado alteraciones tempranas en la dupla redox glutatión oxidado/glutatión reducido, incrementándose el estado de reducción en condiciones control y reduciéndose fuertemente en condiciones de estrés salino. Se han descrito también los cambios en actividades enzimáticas del sistema antioxidante, con respuestas variables cada una de las enzimas analizadas: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y glutatión reductasa (GR). Con actividades diferenciales para algunas de ellas dependiendo del tiempo post inoculación analizado. En raíces transgénicas de soja que sobreexpresan glutatión reductasa dirigida a plastidios, el número de nódulos disminuye significativamente respecto de raíces salvajes, demostrando que el control redox celular y subcelular es fundamental en el establecimiento de la interacción simbiótica.

Dado que actualmente se cuenta con el genoma de soja totalmente secuenciado, se realizó una búsqueda *in silico* de los genes para SOD, CAT, APX, GR y NADPH oxidasa. La aproximación de búsqueda fue la realización de comparaciones por BlastN usando el banco de datos *Phytozome*. Se encontraron para soja 3 genes putativos para CAT todas de localización peroxisomal, 5 CuZnSOD con localizaciones cloroplástica, citosólica y extracelular, 5 FeSOD todas de localización cloroplástica, 2 MnSOD de localización mitocondrial, 2 GR de localización cloroplástica y citoplásmica, 8 APX con localización citosólica y cloroplástica tanto estromal como tilacoidal, y 18 genes putativos para NADPH oxidasa. Se diseñaron primers para todos estos genes y se estableció el patrón de expresión en hoja, raíz y pelo radical de soja. También se analizaron los niveles de expresión de cada uno de ellos en pelos radicales de soja inoculados y no inoculados con *B. japonicum* bajo condiciones de estrés salino y osmótico.

AT7_027 LOS EFECTORES SECRETADOS A TRAVÉS DEL T3SS EN LA SIMBIOSIS CON LA SOJA

*Jiménez-Guerrero, Irene*¹; *Pérez-Montaño, Francisco*¹; *Cubo, M. Teresa*¹; *Espuny, M. Rosario*¹; *Bellogín, Ramón A.*¹; *López-Baena, Francisco Javier*¹; *Ollero, Francisco Javier*¹
¹ Dpto. Microbiología. Universidad de Sevilla (España)
fjom@us.es

Muchas bacterias fitopatógenas utilizan el sistema de secreción de tipo III (T3SS) para inyectar al interior de la célula eucariótica hospedadora un conjunto de proteínas efectoras capaces de inducir la enfermedad. El reconocimiento de un efector de virulencia (Avr) por una proteína específica de resistencia de la planta (R) provoca el disparo de una respuesta de defensa que causa la muerte del patógeno y el control de la infección. Sin embargo, en ausencia del correspondiente gen *R*, las proteínas

Avr pueden actuar disminuyendo las respuestas defensivas de la planta y por tanto facilitando la inducción de la enfermedad. El T3SS también ha sido identificado en algunas especies de rizobios. En estos organismos, las proteínas secretadas a través del T3SS están implicadas en la determinación del rango de hospedador y en la eficiencia de la nodulación. *Sinorhizobium fredii* HH103 es una bacteria de amplio rango de hospedador que posee el T3SS. Esta bacteria secreta al medio extracelular al menos ocho proteínas, denominadas Nop, necesarias para una nodulación efectiva de la soja. Se han identificado los genes que codifican estas proteínas y en la actualidad se está estudiando su papel en la simbiosis con la soja y otras leguminosas hospedadoras. Se ha propuesto que el T3SS de fitopatógenos y de bacterias simbióticas podría jugar un papel similar en la patogénesis y en la simbiosis, respectivamente. Por tanto, otro de los objetivos de nuestros estudios es la determinación de las respuestas de defensa en soja inducidas por la presencia de estos efectores. Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (España): proyectos AGL2005-07923-C05, AGL2006-13758-C05/AGR y beca para la formación de doctores de la Universidad de Sevilla.

AT7_028 ESTUDIOS PARA LA IDENTIFICACIÓN QUÍMICA DE MOLÉCULAS PRODUCIDAS POR ARROZ Y JUDÍA QUE INTERFIEREN EN LA PERCEPCIÓN DEL QUÓRUM BACTERIANO

*Pérez-Montaño, Francisco*¹; *Jiménez-Guerrero, Irene*¹; *Ollero, Francisco Javier*¹; *López-Baena, Francisco Javier*¹; *Guasch-Vidal, Beatriz*¹; *Cubo, M. Teresa*¹; *Bellogín, Ramón A.*¹; *Espuny, M. Rosario*¹
¹ Dpto. Microbiología. Universidad de Sevilla (España)
fjom@us.es

Al mecanismo de regulación de la expresión de genes en función de la densidad celular bacteriana se le denomina percepción de quórum (PQ). Está mediada por pequeñas moléculas difusibles denominadas autoinductores (AI). En las bacterias Gram-negativas los AI más comunes son las *N*-acil homoserina lactonas (AHL). En las bacterias que establecen relaciones con plantas, la PQ controla la activación de genes bacterianos necesarios para la interacción con la planta. Éstas, a su vez, también pueden producir moléculas de diversa naturaleza química que interfieren en la PQ de estas bacterias.

En este trabajo, mediante el uso de dos estirpes biosensoras se ha estudiado la producción en *Oryza sativa* cv Puntal (arroz) y *Phaseolus vulgaris* cv BBL (judía) de moléculas que interfieren en la PQ. El biosensor *Agrobacterium tumefaciens* NT1 (pZLR4) se usó en ensayos con extractos de semilla y el biosensor *Escherichia coli* pSB536 se usó en ensayos con las propias raíces de las plantas. En ambos experimentos, y para las dos plantas, se detectaron moléculas que interfirieron en la PQ. El hecho de que se detectaron en ambas plantas, así como en extractos de semillas y en raíces, no implica que sean la misma molécula. Una vez detectadas, se iniciaron ensayos para la determinación química. En primer lugar se hizo una cromatografía en capa fina para separar las posibles moléculas en función del tamaño y polaridad. Usando al biosensor *A. tumefaciens* NT1 (pZLR4) para revelar las placas de cromatografía se determinó que existe al menos una molécula apolar y/o de alto tamaño molecular en los extractos de semilla de cada planta. El siguiente paso, fue determinar si estas moléculas eran de tipo AHL. Para ello se repitieron los ensayos iniciales de detección a partir de extractos de semillas y de las propias raíces pero tras tratamientos que degradan las moléculas de tipo AHL. En el caso de los ensayos a partir de extractos de semillas, las muestras se alcalinizaron hasta pH 9,5 (en el que el anillo lactónico está abierto y las AHL pierden su actividad biológica) y se volvieron a realizar ensayos con la estirpe biosensora. Por otro lado, se introdujo el plásmido pME6863, que codifica una lactonasa (enzima que hidroliza el anillo lactónico) en *Escherichia coli* pSB536 y se repitieron los ensayos con raíces de plantas de arroz y judía. En el primer caso, tras alcalinizar el extracto, el biosensor no detectó las moléculas que interfieren en la PQ bacteriano. Sin embargo, en el caso de los ensayos con raíces usando al biosensor que expresa la lactonasa, se siguieron detectando moléculas que interfirieron en la PQ bacteriano. Por todo ello, no podemos descartar que las moléculas obtenidas de extractos de semilla fuesen de tipo AHL. Sin embargo, las moléculas detectadas en ensayos con raíces no parecen tener una naturaleza de tipo AHL, ya que siguieron induciendo al biosensor que expresa la enzima lactonasa.

Este trabajo ha sido financiado por Ministerio de Ciencia e Innovación (España): Proyectos AGL2005-07923-C05, AGL2006-13758-C05/AGR y una beca de Formación de Profesorado Universitario.

AT7_029 ESTUDIO DE LA COMPATIBILIDAD ENTRE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y ACEITES NATURALES DE ORIGEN VEGETAL, CON POTENCIALIDADES PARA SER EMPLEADOS EN LA BIOPROTECCIÓN CONTRA PATÓGENOS DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

De la Noval Pons, Blanca¹; Pino, O.²; Marquetti, I.²;

Lorenzo, Adelay¹; Ortega Delgado, Eduardo³

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) (Cuba); ² Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) (Cuba); ³ Facultad de Biología, Universidad de La Habana (Cuba) eortega@fq.uh.cu

El cultivo del tomate se ve afectado por patógenos diversos, siendo los predominantes los fúngicos, entre los que sobresale la especie *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, el que se encuentra distribuido en todo el mundo causando pérdidas en el cultivo con disminuciones en los rendimientos de hasta un 60%. Una vez establecido este fitopatógeno no es posible erradicarlo, provocando en la planta marchites, clorosis y necrosis foliar producto de la invasión del patógeno por el sistema vascular. Algunas de las alternativas empleadas a nivel mundial para el manejo de enfermedades, son el uso de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y productos biológicos que actúan activando las respuestas de defensa en las plantas. En este marco se estudió la compatibilidad que pudiera existir entre los HMA y diferentes bioproductos conformados por aceites de origen vegetal y un fosfolípido, los cuales poseen potencialidades en el biocontrol, contra este patógeno. Se realizó un experimento en condiciones controladas con un diseño completamente aleatorizado. Se encontró que ninguno de los bioproductos estudiados mostró respuestas de incompatibilidad con el hongo micorrizógeno arbuscular (*Glomus hoi*-like) en ninguna de las formulaciones empleadas (sólida y líquida) por el contrario, se observó que los identificados como 48 y 34 estimularon el establecimiento de la simbiosis micorrizica, evaluados como porcentaje de colonización, intensidad de la micorrización y peso del endófito. Este comportamiento se reflejó en la altura de las plántulas a los 21 días, indicador en el que también mostraron un buen comportamiento los aceites, identificados como 34 y 114, así como con el fosfolípido. El empleo combinado de estos bioproductos y los HMA constituyen alternativas de gran perspectiva para ser empleadas en la agricultura agroecológica, teniendo en cuenta el manejo agroecológico de las plagas, con incrementos de la productividad y protección al medio ambiente.

AT7_030 SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATO Y APOORTE DE *Pantoea* SP, CEPA 9C A LA NUTRICIÓN FOSFÓRICA Y EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE RÁBANO

Fernández, LoiretFG¹; Ortega, Eduardo¹

¹ Universidad de La Habana. (Cuba) eortega@fq.uh.cu

El fósforo (P) es de gran importancia para las plantas sin embargo su disponibilidad en los suelos es baja (Khan et al. 2006. Agron. Sustain. Dev. 26: 1-14). La concentración de P en los tejidos vegetales es de 0.05–0.3 %, y en solución en el suelo es de sólo 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Ragothama 1999. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50: 665-693). Al fertilizar con fosfatos, una parte es fijada al suelo y otra es lixiviada, y junto al NO_3^- causan graves problemas ambientales. Usar microorganismos solubilizadores de fosfatos como inoculantes para los cultivos es una alternativa biotecnológica para incrementar la disponibilidad de fósforo. *Pantoea* sp. (cepa 9C) es una bacteria endófito fijadora de nitrógeno, aislada del interior de tallos de la caña de azúcar (Loiret et al., 2004. J. Appl. Microbiol. 97: 504-511) con capacidad solubilizadora de fosfatos. Los estudios realizados mostraron que la cepa 9C tiene una alta capacidad de solubilización. Produjo halos de solubilización con tamaños de hasta 6 mm en medio sólido NBRI-P en 7 días a 30 °C, y en ese tiempo y condiciones solubilizó $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ en el medio líquido hasta acumular 1128 $\mu\text{g P mL}^{-1}$. En plantas rábano (*Raphanus sativus*, L. var. Scarlet Globe) usadas como modelo por su alta demanda de P y rápido crecimiento se demostró que la nutrición fosfórica y el crecimiento fueron influenciados por la inoculación con *Pantoea* sp. cepa 9C. Las plantas inoculadas con el microorganismo, absorbieron más P que las plantas no inoculadas, alcanzando en los tejidos foliares concentraciones ≥ 3500 ppm P base seca. Además, la inoculación a las semillas de rábano previo a la germinación produjo efectos positivos sobre las variables: largo de la raíz principal, largo del vástago, masa fresca del vástago y número de ramificaciones en la raíz principal.

AT7_031 IDENTIFICACIÓN PARCIAL Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS RIZOSFÉRICOS Y DE VÁSTAGO DE ARROZ

Salazar, Irian¹; Ortega, Eduardo¹

¹ Universidad de La Habana. (Cuba) eortega@fq.uh.cu

¹Laboratorio Fisiología Vegetal, Dpto. Biología Vegetal, Fac. de Biología, Universidad de La Habana, Cuba. ² Departamento de Microbiología y Parasitología, Fac. de Farmacia, Universidad de Sevilla. ³ EMBRAPA, Brasilia, Brasil. eortega@fq.uh.cu El arroz (*Oryza sativa* L.) es el cereal más consumido en Cuba y el mundo. Su rendimiento debe aumentarse para suplir la gran demanda lo que podría viabilizarse mediante el empleo de inoculantes bacterianos. Los géneros de microorganismo asociados a las plantas dependen de las condiciones del suelo, especie, cultivar de planta y otros factores del medio ambiente. Los objetivos de este trabajo fueron aislar microorganismos autóctonos asociados a plantas de arroz (*Oryza sativa* L., variedad INCA Lp-5) en condiciones de campo, dilucidar las posibles vías de promoción de crecimiento vegetal que poseen aislados bacterianos y examinar el efecto de su inoculación en el crecimiento de plantas de arroz. Se realizaron aislamientos del suelo rizosférico y del interior de las plantas. Se realizó el aislamiento del ADN total de cada uno; y se amplificó la región ARN 16S mediante PCR. La secuencia de dicho fragmento y se comparó con las secuencias existentes en bases de datos internacionales mostrando que los microorganismos asociados a las plantas de arroz pertenecen a los géneros *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*. Así mismo se procedió a su caracterización como bacterias PGPR. Se determinó la capacidad de: producir ácido indol acético, solubilizar fosfatos inorgánicos en medio sólido y líquido; producir sideróforos, enzimas quitinasas y proteasas. Los valores de fósforo solubilizado en medio líquido oscilaron entre 20 y 660 $\mu\text{g P mL}^{-1}$. La producción de ácido indol acético estuvo entre 0,8 y 229 $\mu\text{g indol mL}^{-1}$. De los 24 aislados, 18 mostraron producción de enzimas proteasas con valores entre 0,1 y 2,1 cm de halo de producción. Veinte de los aislados mostraron halos de producción de sideróforos y 17 mostraron actividad de las enzimas quitinasas.

AT7_032 MICORRIZAS ARBUSCULARES Y COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE COMUNIDADES DE PASTIZALES NATURALES: EFECTOS A LARGO PLAZO DE LA FERTILIZACIÓN FOSFATADA.

Pezzani, Fabiana¹; Lezama, Felipe¹; Rodríguez, Andrea¹; del Pino, Amabelia¹; Parodi, Gerardo¹; García, Silvina¹;

Alchurru, Mauricio¹; Jaurena, Martín²

¹ Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Uruguay. (Uruguay); ² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Uruguay. (Uruguay) fabiana@fagro.edu.uy

Las micorrizas arbusculares representan una de las asociaciones simbióticas más comunes en las plantas vasculares, e involucran a hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). Generalmente considerada mutualista, esta simbiosis tiene un papel muy importante en la adquisición de nutrientes, particularmente fósforo (P). En los pastizales naturales de Uruguay los suelos son pobres en P y una práctica común para levantar dicha limitante es la realización de mejoramientos extensivos que implican la fertilización fosfatada. Se ha demostrado que la micorrización depende de las concentraciones de P disponible en el suelo. Asimismo, se ha encontrado una estrecha relación entre el ensamblaje de HMA presente en el suelo y la composición florística de los pastizales.

Se presentan los resultados preliminares de un proyecto que estudia los efectos a largo plazo de la fertilización fosfatada sobre la simbiosis micorrizica y el análisis de esta interacción como posible factor de cambio de la composición florística de un pastizal natural en Uruguay. Se desarrolla en un experimento instalado en 1996 en el INIA Treinta y Tres que consistió en comparar dos estrategias de fertilización fosfatada (media: 45 kg ha⁻¹ de P_2O_5 a la siembra y refertilizaciones anuales de 30 kg ha⁻¹ de P_2O_5 , y alta: 90 kg ha⁻¹ de P_2O_5 a la siembra y refertilizaciones anuales de 60 kg ha⁻¹ de P_2O_5) y un testigo de campo natural sin fertilizar. Los tratamientos se realizan anualmente desde 1996 a la fecha en un diseño de bloques al azar en parcelas de 2 ha. La composición florística de la pastura ha cambiado en respuesta a la fertilización. Las parcelas con altas dosis de P presentaron un incremento de las gramíneas anuales invernales y un aumento de la abundancia de *Cynodon dactylon*, mientras que disminuyen las gramíneas nativas perennes, tanto estivales como invernales. En febrero 2011 se realizó el primer muestreo para estudiar la colonización micorrizica de especies invasoras y nativas de la comunidad. *C. dactylon* (invasora), presentó altos niveles de micorrización en todas las parcelas. Dos especies nativas, *Panicum hians* y *Coelorhachis selloana* tuvieron menor colonización por HMA en sus raíces en las parcelas fertilizadas, siendo más notorio este efecto en las parcelas con alto contenido de *P. Paspalum dilatatum* presentó alta colonización total pero menor presencia de arbusculos y ovillos en las parcelas con alto P. *Paspalum notatum* presentó alta colonización en campo natural, y es una de las especies nativas que desapareció

en las parcelas fertilizadas. Estos resultados muestran un efecto diferencial de la fertilización fosfatada sobre especies nativas e invasoras. También se está evaluando el potencial micorrícico a través de la abundancia y diversidad de esporas de HMA en suelo, observándose diferencias en ambos parámetros debidas a los tratamientos de fertilización.

AT7_033 CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL MUTANTE EN EL GEN *rsh* DE *Bradyrhizobium japonicum*

Pérez Giménez, Julieta¹; Covelli, Julieta M.¹; Lodeiro, Anibal R.¹

¹ INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR -Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas - UNLP - CCT-La Plata, CONICET (Argentina) jpg@biol.unlp.edu.ar

Las bacterias responden a las condiciones del entorno controlando complejas redes regulatorias. Una de ellas consiste en la adaptación a condiciones de escasez de nutrientes, mediante el disparo de lo que se conoce como respuesta estricta (*stringent response*). Dicha respuesta requiere del segundo mensajero (p)ppGpp cuya síntesis está controlada, en la mayoría de las bacterias, por la proteína RelA/SpoT (Rsh). La importancia de este segundo mensajero en diversas especies que realizan simbiosis con eucariotas ha sido demostrada, pero no existen aún reportes en rizobios de crecimiento lento. Realizando un análisis de secuencias de genes que codifican la proteína RelA/SpoT, vimos que *B. japonicum* cuenta con un único gen *rsh*, anotado como *bl15065*. Por doble recombinación homóloga construimos la cepa LP 3060, mutante en *bl15065*. Esta mutante mostró una cinética de crecimiento y muerte similar a la cepa parental, *B. japonicum* USDA110.

Recientemente, el estudio de una mutante similar en *Rhizobium etli* mostró una disminución en la movilidad respecto de la cepa salvaje. La movilidad de las bacterias puede estudiarse en medio semisólido, donde se observan los movimientos de *swimming* y *swarming* según el contenido de agar. Las bacterias en movimiento de *swimming* forman anillos concéntricos característicos a partir del punto de siembra. Aunque LP 3060 resultó móvil, el patrón de los anillos fue claramente diferente del de la cepa parental. Por otra parte, el movimiento de *swarming* se caracteriza por un desplazamiento sobre la superficie del agar. Este tipo de movimiento no fue observado en LP 3060. Estos resultados indican que el estímulo nutricional requerido para el *swimming* y el *swarming* no es correctamente percibido en el mutante LP 3060.

La respuesta estricta podría dispararse también en la interacción simbiótica durante la penetración de la raíz, donde los rizobios encuentran un ambiente hostil desde el punto de vista nutritivo. Ello podría conducir a la liberación de factores de virulencia capaces de inducir respuestas de defensa en la planta. Mediante ensayos de qRT-PCR, observamos que la expresión de algunos genes de soja característicos de respuestas de defensa se ha visto disminuida durante la infección por la mutante LP 3060. Además, a diferencia de la cepa parental, la mutante fue capaz de nodular en presencia de NH_4NO_3 20 mM, indicando que esta respuesta de defensa vegetal podría estar vinculada con la inhibición de la nodulación en presencia de N combinado.

AT7_034 ANÁLISIS DE LA COMPETICIÓN PARA LA NODULACIÓN DE RIZOBIOS SIMBIOTES DE SOJA EN RELACIÓN A LA DISPONIBILIDAD INTRACELULAR DE POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) Y LA MOVILIDAD BACTERIANA

Quelas, Juan Ignacio¹; Lodeiro, Anibal Roberto¹

¹ Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM-UNLP-CONICET) (Argentina) quelas@biol.unlp.edu.ar

La bacteria *Bradyrhizobium japonicum* es capaz de asociarse simbióticamente con plantas de soja y formar estructuras nuevas en sus raíces llamadas nódulos. Dentro de ellos, las bacterias (transformadas en bacteroides) pueden fijar N_2 atmosférico y translocarlo hacia la planta en formas asimilables, supliendo así la ausencia de este elemento en los suelos. Comúnmente, las semillas de soja son inoculadas con distintas formulaciones de *B. japonicum* para suplir la falta o carencia de N en los suelos arables. Así, se establece una competencia entre los rizobios que fueron inoculados sobre la semilla y aquellos que naturalmente están en los suelos (los cuales resultan más competitivos). En este sentido, se ha establecido que las reservas de C que posea la bacteria resultan de vital importancia tanto en el proceso de la competición para la nodulación como en la supervivencia. Una de estas reservas de C es el polímero polihidroxibutirato (PHB), el cual puede llegar a constituir más del 75% en peso seco de la masa total de una bacteria, ocupando una buena parte de su citoplasma en forma de gránulos hidrofóbicos. En nuestro laboratorio, hemos obtenido mediante mutagénesis sitio-específica un mutante de la cepa de referencia *B. japonicum* USDA 110 que es incapaz de sintetizar PHB (LP 4360) y otro mutante que posee alrededor de 2,5 a 3 veces más cantidad que la cepa salvaje (LP 6073), ambos cultivados en medios líquidos. Ensayos de competición entre estas cepas en

plantas de soja (crecidas en macetas con vermiculita) mostraron que la cepa LP 6073 ocupa el 80-98% de los nódulos cuando compete con la cepa salvaje o con la mutante LP 4360 respectivamente, mientras que la cepa LP 4360 ocupa un 15-20% cuando se enfrenta a la cepa LP 6073 o la salvaje, respectivamente. A su vez, ensayos de movilidad (natación) en placas agarizadas mostraron que existe una relación directa entre la cantidad de PHB y la capacidad de nadar que poseen estas bacterias. Teniendo en cuenta que tanto la disponibilidad de PHB como la movilidad constituyen elementos clave para la competitividad bacteriana, estos resultados resultan prometedores para un mejor entendimiento de la ecología de los rizobios como también a la hora de la formulación de inoculantes rizobianos más efectivos para soja.

AT7_035 BACTERIAS AISLADAS DE NÓDULOS DE *Phaseolus vulgaris* SON SUSCEPTIBLES DE UTILIZARSE COMO BIOFERTILIZANTES EN CULTIVOS HORTÍCOLAS.

Flores-Félix, Jose D¹; Rivera, Lina P¹; Menéndez, Esther¹; Mateos, Pedro F¹; Martínez-Molina, Eustoquio¹; Velázquez, Encarna¹; García-Fraile, Paula¹; Rivas, Raul¹

¹ Departamento de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca (España) lpr@usal.es

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal que presentan un carácter endófito son susceptibles de ser utilizadas como potenciales biofertilizantes en diversos tipos de cultivos. Para analizar este posible efecto beneficioso de los endófitos en cultivos hortícolas aislamos 36 cepas diferentes procedentes del interior de nódulos de *Phaseolus vulgaris* cultivada en la provincia de Salamanca (España), con el fin de comprobar su capacidad para promover el crecimiento vegetal en lechuga (*Lactuca sativa*), ya que este cultivo presenta gran importancia en este país, ascendiendo la producción a un millón de toneladas anuales. Se evaluó la capacidad de las diferentes cepas para solubilizar fosfato, producir sideróforos y sintetizar ácido indolacético, inoculándose una suspensión de cada una de las cepas sobre plántulas de lechuga como una primera aproximación de la interacción planta-microorganismo. En función a estas pruebas se seleccionaron dos cepas, PEPV15 y PEPV16 que fueron identificadas como *Phyllobacterium* sp. y *Rhizobium leguminosarum* respectivamente. Ambas cepas presentaban cualidades potenciales para promover el desarrollo de la planta. Estas cepas se transformaron con el plásmido pHCG60, que contiene un gen que codifica para la proteína GFP, y permite el estudio de la interacción con la raíz mediante microscopía de fluorescencia y confocal. Se observó que ambas bacterias eran capaces de colonizar la superficie de la planta y el interior de los espacios intercelulares de las células de la raíz, siendo más activa la cepa PEPV15 en esta colonización, aunque la cepa PEPV16 colonizaba la superficie de forma más homogénea. Ambas cepas se inocularon en plantas de lechuga cultivadas sobre sustrato estéril. Al cabo de 40 días se procedió a su recolección, apreciando un mayor porte de las plantas inoculadas con las dos cepas y un mayor desarrollo radicular con respecto al control negativo. En último lugar se comprobó la actitud como biofertilizante de ambas cepas realizando el pesado de la parte aérea y la medición de los diferentes elementos de las plantas. Las plantas inoculadas mostraban un incremento en la masa seca del porte aéreo, siendo más destacable en las plantas inoculadas con la cepa PEPV16 donde había un incremento del 50% con respecto del control. Además las plantas inoculadas presentaban un incremento en la concentración de oligoelementos como el hierro, el zinc o el boro que tienen un importante papel en la regulación de distintos procesos celulares y enzimáticos.

AT7_036 SYMBIOTIC PHENOTYPE OF *Sinorhizobium fredii* HH103 MUTANTS ON *Lotus japonicus* AND *L. burtii*.

Rodríguez Navarro, Dulce Nombre¹; Temprano, Francisco¹; Jin, Haojie²; Sandal, Niels²; Andersen, Stig U.²;

Stougaard, Jens²; Ruiz Sainz, Jose Enrique³

¹ Centro-Las Torres-Tomejil (IFAPA) (España); ² Centre for Carbohydrate Recognition and Signalling (Dinamarca); ³ Universidad de Sevilla (España) dulcenombre.rodriguez@juntadeandalucia.es

Sinorhizobium fredii HH103 is a fast growing soybean rhizobia able to nodulate many other legumes. This broad host-range bacterium forms nitrogen fixing nodules with *Lotus burtii* but it only induces the formation of pseudonodules on *L. japonicus* roots. Very recently, the complete genome sequence of *S. fredii* HH103 has been carried out (1). *Lotus japonicus* is the model legume used for studying determinate nodule symbioses (2).

The symbiotic behaviour of different *S. fredii* HH103 mutants has been determined on *Lotus japonicus* Gifu and *L. burtii* plants, under controlled conditions. Two types of growing plant systems have been used: mini Leonard jars units and square Petri dishes. Two main types of *S. fredii* mutants have been used in this study: mutants affected in nodulation genes or in the production of surface polysaccharides.

Most of the mutants analysed were not significantly affected in their interaction with *L. burtii* and *L. japonicus*. However, mutant SVQ517 (affected in *nolR*) was able to

induce the formation of some nitrogen-fixing nodules on *L. japonicus* roots. Isolates from nodules showed the antibiotic resistant markers (Str-r, Gen-r) of SVQ517, which indicates that, these Fix+ nodules were actually occupied by the mutant SVQ517. One nodule-isolate (called SVQ517-1) is under study, it has been inoculated on *L. japonicus* and *L. burtii* plants.

A *S. fredii* HH103 *ndvB* mutant (called SVQ562) formed some nitrogen fixing nodules with *L. burtii*. Bacterial Isolates from these nodules showed the antibiotic resistant makers of SVQ562. To our knowledge, this is the first case in which a rhizobial mutant unable to produce cyclic glucans is still capable of forming nitrogen nitrogen-fixing nodules with its host legume.

AT7_037 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ENDOFITOS Y EPIFITOS PRESENTES EN ESPECIES HORTÍCOLAS SUSCEPTIBLES A LOS HONGOS FITOPATÓGENOS *Botrytis cinerea* Y *Sclerotinia sclerotiorum*. EVALUACIÓN DE SU CAPACIDAD DE DEGRADAR ÁCIDO OXÁLICO.

*Romero, Fernando Matias*¹; *Marina, Maria*¹; *Estrella, Maria Julia*²; *Menendez, Ana Bernardina*¹; *Pieckenstein, Fernando Luis*¹

¹ IIB-INTECH (UNSAM-CONICET) (Argentina); ² IIB-INTECH (UNSAM-CONICET), CIC (Argentina) romero@intech.gov.ar

Numerosas especies de bacterias y hongos son capaces de colonizar el interior de las plantas y establecer interacciones mutualistas como endofitos, resultando esto beneficioso para las plantas. Diversas características hacen de los endofitos candidatos interesantes para el control biológico de enfermedades causadas por microorganismos fitopatógenos. Entre ellas se destacan la producción de sideróforos y compuestos antimicrobianos, la competición por nutrientes o el nicho y la inducción de resistencia sistémica en el hospedador. Sin embargo, la capacidad de los endofitos de degradar toxinas producidas por microorganismos fitopatógenos, y su impacto en el desarrollo de enfermedades, no han sido explorados en profundidad. El ácido oxálico es una toxina de importancia clave en el desarrollo de enfermedades de plantas provocadas por los hongos necrotrofos polífagos *Sclerotinia sclerotiorum* y *Botrytis cinerea*.

Objetivos del presente trabajo fueron la identificación de bacterias endofitas y epifitas que conforman la microflora natural de cultivos hortícolas susceptibles a dichos fitopatógenos y la evaluación de la capacidad de tales bacterias de degradar ácido oxálico. Para alcanzar tal fin, se recolectaron hojas de plantas sanas de tomate, pepino, berenjena y pimiento en seis establecimientos de la región hortícola del partido de La Plata (Pcia. Bs As). Las hojas fueron lavadas y luego desinfectadas superficialmente, utilizándose el agua de lavado como fuente de bacterias epifitas. A partir de extractos de las hojas desinfectadas se aislaron bacterias endofitas. Se obtuvo un total de 830 aislamientos y se determinó la identidad (género y especie) de 148 mediante secuenciación del gen del ARN ribosomal 16S y comparación con secuencias depositadas en la base de datos del GenBank (NCBI). Se detectó una gran diversidad de microorganismos, entre los cuales los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* estuvieron representados tanto en la población de endofitos como en la de epifitos de todos los sitios de muestreo. Por otro lado, algunos microorganismos estuvieron representados en un único sitio de muestreo, así como otros en una única especie vegetal, este es caso de *Erwinia* en pepino, o *Serratia* en berenjena. Con el fin de identificar microorganismos capaces de degradar ácido oxálico, se evaluó la capacidad de los 148 aislamientos identificados de utilizar dicho compuesto como única fuente de carbono. Se encontró que 96 de ellos poseen tal característica. Al presente se encuentra en evaluación su capacidad de degradar ácido oxálico in planta e interferir con el desarrollo de enfermedades provocadas por *S. sclerotiorum* y *B. cinerea*.

La colección de bacterias obtenida representa una fuente de potenciales agentes para el control biológico de enfermedades de especies hortícolas provocadas por *S. sclerotiorum* y *B. cinerea*, mediante la degradación del ácido oxálico producido por tales patógenos. Más aún, dicha colección podría servir como material de base para la selección de microorganismos promotores del crecimiento u otras aplicaciones biotecnológicas.

AT7_038 IN *Azospirillum brasilense* CD A MUTATION IN *flmB* RESULTS IN A TRUNCATED POLAR FLAGELLUM, LACK OF SWIMMING, AND ALTERED ATTACHMENT TO MAIZE ROOTS.

*Rossi, Fernando*¹; *Ferrari, Walter*¹; *Castro, Marina*¹; *Fischer, Sonia*¹; *Principe, Analia*¹; *Pistorio, Mariano*²; *Jofré, Edgardo*¹

¹ Universidad Nacional de Río Cuarto (Argentina); ² IBBM Universidad de La Plata (Argentina) frossi@exa.unrc.edu.ar

Azospirillum brasilense is a motile Gram-negative bacterium that can adapt its flagellation to different environments. A mixed flagellation system allows movement of bacteria in liquid media (swimming) by a polar flagellum, present in all growth conditions, while the synthesis of lateral flagella is induced to allow the movement on solid surfaces (swarming). The structural component of the lateral flagella in *A. brasilense* Sp7, the flagellin Laf1, has been previously characterized. A *laf1* mutant completely loses its capability to swarm on solid media but the absence of lateral flagella does not seem to influence bacterial adhesion to wheat roots. In contrast, the structural gene of the polar flagellum has not yet been identified. The polar flagellin protein, however, was shown to play a role in the adhesion of *Azospirillum* to plant roots. Although previous studies have confirmed that the polar flagellin is glycosylated in *A. brasilense*, the genes required for such glycosylation as well as the role of this modification, have not been described.

The best-characterized example is the flagellin of *Campylobacter* spp. which is decorated with as many as 19 O-linked glycans contributing near of 10% to the weight of flagellin. Most strains appear to carry the genes for synthesis of two distinct nine-carbon sugars that decorate flagellin: pseudaminic acid (PseAc) and an acetamidino form of legionaminic acid (LegAm). The PseB/PseC proteins, encoded by *Cj1293* and *Cj1294*, respectively that function as dehydratase/aminotransferase have been shown essential enzymes for the synthesis of PseAc in *Campylobacter jejuni* 81-176. Mutations in either *Cj1293* or *Cj1294* resulted in a non-motile phenotype with accumulation of intracellular flagellin, impaired autoagglutination, and changes in attachment and/or invasion of intestinal ephytelium.

In this study we generated a Tn5 mutant of *A. brasilense* Cd severely impaired in swimming. Genetic characterization allowed to the identification of the *flmB* gene whose deduced amino acid sequence showed high similarity and identity to a pyridoxal phosphate-depend aminotransferase of *Caulobacter crescentus*. The *flmB* gene is part of an operon with *flmA* which encodes a dehydratase/reductase that uses NAD⁺ as cofactor and UDP-glucose as specific substrate. The putative role of both proteins is related to changes of the flagellin before subunit assembly within the flagellar filament. Analysis by transmission electron microscopy revealed that the *flmB* mutant strain produced a truncated polar flagellum compared to the wild-type strain. Moreover, the attachment of the *flmB* mutant strain to maize roots was significantly lower than the wild-type strain in competition assays suggesting the participation of the polar flagellum during the establishment of the plant-bacteria interaction. Complementation assays of mutant *flmB* with the wild-type *flmB* allele fully restored the wild-type phenotype indicating the absence of polar effects of the Tn5 insertion on *flmB* downstream genes.

AT7_039 RESPUESTAS DEL CULTIVO DE TRIGO (*Triticum aestivum*) A LA INOCULACIÓN CON *Azospirillum brasilense* EN DIFERENTES AMBIENTES AGRÍCOLAS DE URUGUAY.

*Russell, Horacio*¹; *Baraibar, Amalia*²; *Cardozo, Walter*³; *Abraham, Jorge*²; *Crespo, José L.*⁴

¹ Ing. Agr. Consultor Privado (Uruguay); ² Ing. Agr. (Uruguay); ³ Ing. Agr. ex CALSAL (Uruguay); ⁴ Ing. Agr. SOFORUPA (Uruguay) horaciorusell@gmail.com

Para obtener pautas de manejo agrónomico en un inoculante comercial (GRAMINOSOIL), se realizaron ensayos experimentales en chacras agrícolas del Litoral-oeste. Se establecieron seis áreas experimentales y se incluyeron parcelas de observación con diferentes tratamientos: sin inocular, inoculados sin fertilización inicial, inoculados y fertilizados inicialmente y luego re-fertilizados con nitrógeno mineral. Al comienzo de la espigazón se evaluó: n° de plantas/m², altura de plantas (cm), materia seca en parte aérea/raíces y n° de espigas/m². Al momento de la cosecha se evaluó: n° de espigas/m², peso seco/espiga, rendimiento de grano (kg/ha) e índice de cosecha.

Las respuestas marginales en rendimiento (kg/ha) respecto al testigo absoluto (tratamiento sin inocular y sin fertilización inicial) disminuyeron en la medida que mejoraron las condiciones de fertilidad de los suelos, y también cuando se incrementaron las fertilizaciones y las re-fertilizaciones. El costo marginal (U\$S/ha) disminuyó al mejorar las condiciones nutritivas del cultivo. Se lograron muy buenas respuestas en ambientes productivos con limitantes ambientales. Se observó interacción positiva con las fertilizaciones y re-fertilizaciones en los ambientes más favorables. En suelos de menor fertilidad las respuestas alcanzaron hasta el 35%.

En suelos de fertilidad alta las respuestas no superaron el 10%. Las respuestas a la inoculación se relacionaron con la fertilidad de los suelos, con la historia previa de las chacras, con los niveles iniciales de fertilización química, con los niveles de re-fertilización con nitrógeno mineral y con diferencias genéticas de los cultivares de trigo.

AT7_040 CONSTRUCCIÓN DE HERRAMIENTAS RIVET PARA EL ESTUDIO DE EXPRESIÓN DE GENES EXPRESADOS DURANTE LA SIMBIOSIS *Sinorhizobium meliloti*-ALFALFA

*Salas, María Eugenia*¹; *Lozano, Mauricio Javier*¹; *Martini, Carla*¹; *López, José Luis*¹; *Salto, Ileana*¹; *Torres Tejerizo, Gonzalo*¹; *Giusti, María de los Ángeles*¹; *Del Papa, Florencia*¹; *Pistorio, Mariano*¹; *Lagares, Antonio*¹

¹ IBBM - Instituto de Biotecnología y Biología Molecular - Dpto Cs. Biológicas - Facultad de Cs. Exactas - Universidad Nacional de La Plata - CCT-La Plata - CONICET (Argentina)
eugelas@biol.unlp.edu.ar

El cultivo de alfalfa resulta de particular importancia en países ganaderos por ser la principal fuente forrajera que alimenta al ganado vacuno. En ese contexto, el mejoramiento racional de la simbiosis de alfalfa con rizobios eficientes debe ir acompañado de una caracterización detallada a nivel molecular del proceso de asociación, y de la influencia del entorno sobre el mismo. Lamentablemente, las técnicas de estudio de expresión de genes mayormente utilizadas, tales como micro y macro arrays, resultan en muchos casos limitadas cuando se desea caracterizar etapas de la simbiosis que son de difícil acceso ó donde el material de interés es escaso (ej. hilos de infección, nichos del interior del nódulo). Con el propósito de desarrollar nuevas técnicas para el estudio de la simbiosis, en nuestro laboratorio hemos trabajado en la construcción de herramientas RIVET (*Recombination-based In Vivo Expression Technology*) para su aplicación en el sistema *S. meliloti*-alfalfa. Estas técnicas se basan en la utilización del gen sin promotor *tnpR* que codifica una recombinasa específica de sitio, para realizar fusiones transcripcionales a lo largo de todo el genoma de *S. meliloti*. La expresión de la recombinasa a partir de promotores del rizobio y la pérdida subsiguiente de un cassette indicador de DNA, permite luego la selección fenotípica de aquellos clones que expresan genes que sólo se encienden en nichos de interés (ej. a lo largo de la simbiosis). En este trabajo hemos construido una nueva herramienta RIVET basada en el uso de un transposón derivado del Tn5 para generar las fusiones transcripcionales a *tnpR*. Este nuevo transposón, que se encuentra en un plásmido suicida en rizobios, posee en uno de sus extremos un fragmento que consta de las 19bp necesarias para la unión de la transposasa y que sustituye la IS50L. En el otro extremo hemos preservado la IS50R intacta. Rio abajo del extremo izquierdo, y seguido de señales terminadoras de la traducción, hemos clonado el gen *tnpR* sin promotor, un gen que codifica resistencia a tetraciclina, y el origen de transferencia conjugativa *oriT* del plásmido RP4. La nueva herramienta será utilizada para la construcción de fusiones transcripcionales a *tnpR* en *S. meliloti* y podrá ser empleada para la generación de bibliotecas RIVET en otros rizobios y bacterias de interés sin la necesidad de generar bibliotecas plasmídicas.

AT7_041 INCIDENCIA DE LAS LEGUMINOSAS EN LA RECOMPOSICIÓN DE LA CUBIERTA VEGETAL DE LA ESTEPA DE LA PATAGONIA.

*Stronati, Mónica*¹; *Gonzalez, Elena*¹; *Pentreath, Vivien*¹; *Fioretti, Mariela*²

¹ Universidad Nacional de la Patagonia "SJB"- Chubut- (Argentina); ² Universidad Nacional del Sur - Bs. As - (Argentina)
strom@unpata.edu.ar

El escenario natural actual de la región muestra áreas con la denudación total o parcial de la superficie del suelo en amplias zonas, con disminución de especies vegetales valiosas, el empobrecimiento de los pastizales y el aumento de la erosión. En ese escenario ciertas áreas muestran signos de restauración de la cubierta vegetal. Se detectaron leguminosas nativas en la composición florística de esas nuevas comunidades, que puede favorecer el proceso de cicatrización. El objetivo de este trabajo fue caracterizar aspectos del desarrollo de leguminosas y su posible incidencia en la recomposición de la cubierta vegetal de sitios degradados de la Patagonia Argentina. Se realizaron estudios de campo, laboratorio y jardín de observación. Se estudió la respuesta de la germinación de semillas y el desarrollo de plantas en distintas condiciones de estrés hídrico de especies de leguminosas nativas perennes herbáceas y leñosas. Las observaciones y obtención de los materiales se realizaron entre los 45 y 47° de Latitud Sur. Se efectuaron determinaciones botánicas, cromatográficas y químicas. La germinación y el crecimiento se vieron afectados significativamente cuando aumentó la sequía en todas las especies. Cuando las condiciones de estrés disminuyeron se

observó una recuperación del desarrollo particularmente en las especies herbáceas. A campo, en áreas con intervención antrópica se determinó la presencia de individuos jóvenes y /o renovales de especies de leguminosas herbáceas y leñosas.

Se observó nodulación efectiva a campo y en plantas de ensayos en distintas situaciones de estrés.

Se discuten aspectos de las estrategias de especies de leguminosas para la persistencia y difusión en situaciones de estrés como erosión y agravamiento de la aridez, provocadas por la actividad antrópica en zonas áridas y semiáridas de la Patagonia Argentina.

AT7_042 ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN DE BACTERIAS AISLADAS DE VARIEDADES URUGUAYAS DE CAÑA DE AZÚCAR EN PLANTAS MICROPROPAGADAS

*Taulé, Cecilia*¹; *Battistoni, Federico*¹

¹ Laboratorio de Bioquímica y Genómica Microbianas. Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable" (Uruguay)
ctaule@iibce.edu.uy

Una de las políticas energéticas llevadas a cabo por el gobierno nacional es llegar a incluir un 5% de bioetanol en las gasolinas comercializadas en el país para el año 2012. Como consecuencia, se ha estimulado la cadena de producción de bioetanol particularmente el cultivo de caña de azúcar, principal materia prima. El cultivo de caña de azúcar presenta altos costos de producción relacionados a la fertilización química nitrogenada aplicada. Asimismo, de la fertilización química aplicada, el cultivo solo utiliza el 50% de los nutrientes suministrados, perdiéndose el resto por escorrentía o lixiviación, causando graves efectos negativos en el ambiente. El presente trabajo se enmarca en una línea de investigación tendiente a contribuir en la sustentabilidad económica y ambiental del cultivo de la caña de azúcar, mediante el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) en particular endófitas-diazotóforas. Con este fin se construyó una colección de bacterias asociadas a dicho cultivo, la cual ha sido caracterizada bioquímica y molecularmente. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad PCV de aislamientos seleccionados en cañas de azúcar micropropagadas, así como realizar estudios microscópicos de interacción planta-bacteria con la finalidad de poder definirlos como "endófitos verdaderos". Seis aislamientos fueron seleccionados de acuerdo a sus potenciales características PCV y su afiliación filogenética: *Enterobacter* sp. PF1(JF262582), *Rhanelia* sp. LT5(JF262562), *Shinella* sp. PT5(JF262583), *Acinetobacter* sp. JT25(JF262567), *Pantoea* sp. PC3(JF262564) y *Pseudomonas* sp. JA5(JF262570). Las mismas fueron inoculadas a cañas micropropagadas de la variedad LCP85-384, individualmente o en una mezcla, a una concentración de 1x10⁷ células/frasco. Como controles se utilizaron plantas sin inocular y plantas inoculadas con *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, bacteria PCV de caña. A los 4 meses de inoculado, el ensayo se cosechó evaluándose la biomasa seca aérea y radicular, así como la altura y el diámetro basal de las plantas. Los resultados mostraron diferencias significativas en todas las variables medidas para las plantas inoculadas con *Shinella* sp. PT5 y para todas las variables menos peso seco radical al inocular con *Enterobacter* sp. PF1. Con el fin de determinar si los aislamientos seleccionados colonizan los tejidos internos de las plantas de caña y poder definirlos como "verdaderos endófitos", se pusieron a punto diferentes técnicas microscópicas. Los aislamientos que tuvieron mejor respuesta en ensayos de invernáculo, fueron transformados con plásmidos conteniendo genes reporteros. Con el fin de evaluar su colonización, las bacterias transformadas fueron inoculadas a cañas micropropagadas de la variedad LCP85-384 a una concentración de 1x10⁷ células/frasco evaluándose su presencia en raíces y tallos. Resultados de estos experimentos serán presentados. A partir de los resultados obtenidos, se planea evaluar en ensayos de campo la respuesta de plantas de caña de azúcar a la inoculación con *Shinella* sp. PT5 y *Enterobacter* sp. PF1. Agradecimientos: Alicia Castillo, Laboratorio de Biotecnología-INIA Financiación: PEDECIBA, ANII, INIA-FPTA275

13:00 a 14:30

Almuerzo

14:30 a 15:00

XXV RELAR y I MIPCV

Conferencia de Clausura

Los microorganismos como herramienta de desarrollo sostenible: visión internacional, seguridades y desafíos

Conferencista: *Mariangela Hungria* (Brasil)

CC_001 OS MICRORGANISMOS COMO FERRAMENTA DO DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL INTERNACIONAL

*Hungria, Mariangela*¹

¹ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Brasil)
hungria@cnpso.embrapa.br

Em termos globais, novos patamares de produtividade, a necessidade de recuperação de áreas degradadas, de maior produção de alimentos, de viabilização econômica de agricultores e de incremento de diversidade de culturas demandam políticas agrícolas e estratégias de pesquisa inovadoras e em comunhão com o meio ambiente, com a proposta de desenvolvimento agrícola sustentável. Mais do que nunca o cenário é favorável ao uso de microrganismos, visando maximizar a nutrição de plantas, diminuir a poluição ambiental, melhorar a qualidade do solo e permitir maior retorno econômico ao agricultor. Dentre os processos microbiológicos de maior relevância agrícola está a fixação biológica do nitrogênio com leguminosas, algumas de grande importância econômica para os países da América do Sul, como a soja, o feijoeiro, o amendoim, forrageiras e arbóreas e com contribuições que, em alguns casos, chegam a aportes da ordem de 500 kg N ha⁻¹ ano⁻¹. Em termos econômicos, só no Brasil estima-se que a economia anual com a cultura da soja pelo processo de fixação biológica do nitrogênio seja da ordem de US 6,6 bilhões. O mercado de inoculantes para leguminosas na América do Sul hoje supera 40 milhões de doses anuais, mais de 90% destinados à cultura da soja havendo, portanto, grandes perspectivas de expansão com a adoção da tecnologia em outras leguminosas. É necessário, também, estar atentos a possibilidades de comercialização de créditos de carbono no mercado internacional pela substituição de fertilizantes nitrogenados por inoculantes. O mercado com bactérias diazotróficas associativas e endofíticas e/ou bactérias promotoras do crescimento de plantas vem crescendo exponencialmente nos últimos cinco anos na América do Sul, mas o uso tão promissor de fungos micorrízicos ainda é apenas uma promessa. A inclusão de microrganismos que permitam a maior absorção de nutrientes é cada vez mais crítica, uma vez que os países da América do Sul importam mais de 50% das fontes de N, P, K e outros macro e micronutrientes e as estimativas de reservas mundiais de nutrientes como o P são preocupantes. Hoje, as principais culturas beneficiadas por esses microrganismos são o milho, o trigo e mesmo leguminosas como a soja, com excelentes perspectivas para a cana-de-açúcar e determinados nichos, como hortícolas para exportação e batata no Peru. Nos países ibéricos, infelizmente os subsídios agrícolas, tanto de produção, como de insumos agropecuários resultam no cenário atual de baixa inclusão de leguminosas e uso abusivo de fertilizantes nitrogenados, um quadro que pode reverter nos próximos anos, pelas pressões ambientais. Em relação aos bioprocessos, embora o número de doses e tipos de inoculantes incremente a cada ano, inovações em formulações ainda são pequenas, exigindo investimentos em pesquisa nessa área. Em termos legislativos, avanços vêm sendo conseguidos na América do Sul, e o controle do registro e comercialização de produtos inoculantes tem comprovado ser fundamental para a segurança fitossanitária e a qualidade dos produtos comercializados. Em termos de relações internacionais, há novidades no campo da legislação, de transferência de tecnologia, de interação científica e de comercialização entre todos os continentes. Finalmente, progressos vêm sendo conseguidos na pesquisa básica, em filogenia, taxonomia, genômica, proteômica, transcriptômica e metabolômica, mas o retorno desse conhecimentos em produtos e processos microbianos para a agricultura ainda é pequeno.

15:00 a 15:50

XXV RELAR y I MIPCV

Panel y Plenario

15:50 a 16:50

XXV RELAR y I MIPCV

Conclusiones y recomendaciones

16:30 a 17:30

XXV RELAR y I MIPCV

Ceremonia oficial de clausura y entrega de premios

Índice de Autores

<i>Abraham, Jorge</i>	77	<i>Azziz, Gastón</i>	32
<i>Acosta-Rojo, José Luis</i>	72	<i>Azziz, Gastón</i>	63
<i>Adalgisa Thayne, Munhoz Ramos</i>	69	<i>Baca, Beatriz E.</i>	54
<i>Adler, Conrado</i>	16	<i>Bailleres, MA</i>	45
<i>Aguerre, José</i>	64	<i>Bajsa, Natalia</i>	20
<i>Aguerre, Tabaré</i>	30	<i>Bajsa, Natalia</i>	32
<i>Aguilar, Pablo</i>	18	<i>Bajsa, Natalia</i>	41
<i>Alaniz, Sandra</i>	17	<i>Bajsa, Natalia</i>	50
<i>Alarcón, Alejandro</i>	54	<i>Balatti, Pedro Alberto</i>	62
<i>Alasia, María Anyelen</i>	71	<i>Baldani, José Ivo</i>	33
<i>Albanesi, Ada</i>	27	<i>Baldani, José Ivo</i>	48
<i>Albornoz Medina, Patricia</i>	18	<i>Baldani, José Ivo</i>	66
<i>Alchurrut, Mauricio</i>	75	<i>Baldani, Vera Lucía</i>	33
<i>Alejandra, Gutierrez</i>	18	<i>Baldani, Vera Lúcia</i>	69
<i>Allan, Deborah</i>	33	<i>Baraibar, Amalia</i>	77
<i>Almaraz-Suarez, Juan José</i>	54	<i>Barassi, Carlos</i>	70
<i>Althabegoiti, M. Julia</i>	35	<i>Barlocco, Claudia</i>	31
<i>Altier, Nora</i>	16	<i>Barlocco, Claudia</i>	33
<i>Altier, Nora</i>	18	<i>Barlocco, Claudia</i>	38
<i>Altier, Nora</i>	20	<i>Barra Sanhueza, Barbara</i>	39
<i>Altier, Nora</i>	20	<i>Barra Sanhueza, Barbara</i>	70
<i>Altier, Nora</i>	34	<i>Barreto Crespo, M. Teresa</i>	63
<i>Altier, Nora</i>	37	<i>Barreto, Emiliano</i>	64
<i>Altier, Nora</i>	49	<i>Batista Montesano, Leticia</i>	33
<i>Alvarez, Florencia</i>	31	<i>Batista, Jesiane S.S.</i>	58
<i>Alves, Paula I.</i>	63	<i>Batista, Jesiane S.S.</i>	59
<i>Alzugaray, Rosario</i>	20	<i>Batista, Leticia</i>	44
<i>Amarelle, Vanesa</i>	55	<i>Batista, Silvia</i>	53
<i>Amarelle, Vanesa</i>	55	<i>Batista, Silvia</i>	72
<i>Amarelle, Vanesa</i>	56	<i>Battistoni, Federico</i>	33
<i>Amigo, Josefina Alejandra</i>	32	<i>Battistoni, Federico</i>	38
<i>Amigo, Josefina Alejandra</i>	32	<i>Battistoni, Federico</i>	38
<i>Analia, Príncipe</i>	52	<i>Battistoni, Federico</i>	45
<i>Andersen, Stig U.</i>	76	<i>Battistoni, Federico</i>	63
<i>Andersen, Stig U.</i>	69	<i>Battistoni, Federico</i>	69
<i>Andrade, Diva S.</i>	58	<i>Battistoni, Federico</i>	78
<i>Angelini, Jorge</i>	61	<i>Beguiristain, Germán</i>	44
<i>Anzuay, María Soledad</i>	51	<i>Bellogín, Ramón A.</i>	74
<i>Apóstolo, Nancy Mariel</i>	71	<i>Bellogín, Ramón A.</i>	74
<i>Aranha Camargo, Luis Eduardo</i>	69	<i>Benitende, Silvia</i>	27
<i>Argüello, José</i>	21	<i>Bentancur, Oscar</i>	17
<i>Argüello, José</i>	50	<i>Bentancur, Oscar</i>	21
<i>Arias García, Lianne</i>	46	<i>Beracochea, Martín</i>	69
<i>Arias, Alicia</i>	16	<i>Bernabeu, Pamela</i>	72
<i>Arias, Alicia</i>	20	<i>Bettiol, Wagner</i>	15
<i>Arias, Alicia</i>	32	<i>Bettucci, Lina</i>	17
<i>Arias, Alicia</i>	34	<i>Bettucci, Lina</i>	34
<i>Arias, Alicia</i>	41	<i>Bettucci, Lina</i>	60
<i>Arias, Alicia</i>	49	<i>Bettucci, Lina</i>	17
<i>Arias, Alicia</i>	50	<i>Bettucci, Lina</i>	41
<i>Arrospide, Guillermo</i>	39	<i>Bettucci, Lina</i>	44
<i>Arroyo, María Eugenia</i>	36	<i>Beyhaut, Elena</i>	30
<i>Arruebarrena Di Palma, Andrés</i>	54	<i>Beyhaut, Elena</i>	33
<i>Arzola, Joan</i>	46	<i>Beyhaut, Elena</i>	46
<i>Avilés, Ixia I.</i>	40	<i>Beyhaut, Elena</i>	62
<i>Azcarate, Silvana</i>	40	<i>Biaggioni Lopes, Rogério</i>	15

Índice de Autores

<i>Bianucci, Eliana</i>	69	<i>Castro-Sowinski, Susana</i>	67
<i>Bogino, Pablo C</i>	57	<i>Celeste, D´Alessandro</i>	19
<i>Boiardi, José Luis</i>	72	<i>Cendoya, Eugenia</i>	71
<i>Bonilla Buitrago, Ruth Rebeca</i>	34	<i>Chavarria, Max</i>	55
<i>Bonilla Buitrago, Ruth Rebeca</i>	36	<i>Chávez Díaz, Lucía</i>	44
<i>Bonilla Buitrago, Ruth Rebeca</i>	41	<i>Chiocchio, Viviana Mónica</i>	66
<i>Borsari, Omar</i>	66	<i>Chiofalo, Laura</i>	51
<i>Braga, Lucía</i>	16	<i>Chiola, Fiorella</i>	17
<i>Braga, Lucía</i>	34	<i>Conceição, Rinaldo</i>	47
<i>Brandán, Celia Inés</i>	32	<i>Corallo, Ana Belén</i>	63
<i>Braña, Victoria</i>	38	<i>Corallo, Belen</i>	17
<i>Brock, Pip</i>	30	<i>Corallo, Belen</i>	44
<i>Bruno, Carla Valeria</i>	41	<i>Corallo, Belén</i>	17
<i>Buendía, Ana</i>	35	<i>Corallo, Belén</i>	34
<i>Burdman, Saul</i>	57	<i>Cordero, Paula</i>	58
<i>Buschmann Jr., Rubens</i>	42	<i>Corrêa Marques de Mello, Sueli</i>	15
<i>Caballero Mellado, Jesus</i>	62	<i>Correa, Olga Susana</i>	66
<i>Cabrera, Belen</i>	18	<i>Costa Duarte, Daniela</i>	63
<i>Caetano, Gustavo</i>	59	<i>Costa, Daniela</i>	38
<i>Calero, Graciela</i>	17	<i>Costa, Daniela</i>	45
<i>Camargo, Danny</i>	44	<i>Costa, Daniela</i>	56
<i>Capurro, J.E.</i>	39	<i>Costa, Diana</i>	31
<i>Cardeillac, Arianne</i>	56	<i>Couyoupetrou, Manuel</i>	72
<i>Cardoso Mota de Alcantara, Rosa Maria</i>	40	<i>Covelli, Julieta M.</i>	35
<i>Cardozo, Walter</i>	77	<i>Covelli, Julieta M.</i>	76
<i>Carletti, Susana</i>	44	<i>Cozzi, Jorge</i>	31
<i>Carletti, Susana</i>	47	<i>Craig, Elena Beatriz</i>	16
<i>Carletti, Susana</i>	42	<i>Craig, Elena Beatriz</i>	34
<i>Carlini, Celia</i>	18	<i>Crespo, José L.</i>	77
<i>Carpena, Ramón</i>	69	<i>Crespo, Juan Manuel</i>	72
<i>Carrau, Francisco</i>	19	<i>Creus, Carolina</i>	35
<i>Carrillo Beltran, Diego</i>	39	<i>Creus, Cecilia M.</i>	54
<i>Carrozi, Liliana</i>	70	<i>Creus, Cecilia M.</i>	35
<i>Casanova, Leticia</i>	17	<i>Cruz-Sánchez, Jesús Samuel</i>	54
<i>Casanovas, Mabel</i>	70	<i>Cubo, M. Teresa</i>	74
<i>Cassan, Fabricio</i>	49	<i>Cubo, M. Teresa</i>	74
<i>Cassán, Fabricio</i>	27	<i>Cucciufo, Emiliano</i>	16
<i>Cassán, Fabricio</i>	49	<i>Cucciufo, Emiliano</i>	34
<i>Cassán, Fabricio</i>	56	<i>Cueva Párraga, Vatison</i>	65
<i>Cassán, Fabricio</i>	56	<i>Cuitiño, María José</i>	39
<i>Castagnaro, Atilio P.</i>	16	<i>Cuitiño, María José</i>	44
<i>Castagno, NL</i>	45	<i>D´Alessandro, Celeste</i>	18
<i>Castanheira, Nádia L.</i>	56	<i>D´Alessandro, Celeste</i>	18
<i>Castanheira, Nádia L.</i>	63	<i>da Rosa, Fanny</i>	22
<i>Castaño, Carolina</i>	37	<i>Dardanelli, Marta</i>	35
<i>Castiglioni, Enrique</i>	18	<i>Dardanelli, Marta</i>	69
<i>Castro, Marina</i>	52	<i>Dardanelli, Marta S.</i>	57
<i>Castro, Marina</i>	77	<i>Dardanelli, Marta S.</i>	67
<i>Castro, Marina</i>	71	<i>Davyt, Danilo</i>	59
<i>Castro, Stella</i>	67	<i>Dazzo, Frank B</i>	68
<i>Castro, Stella</i>	69	<i>de Araujo, Solon C.</i>	28
<i>Castro, Stella Maris</i>	41	<i>de Barros Soares, Luis Henrique</i>	26
<i>Castro, Susana</i>	59	<i>de Barros Soares, Luis Henrique</i>	48
<i>Castro-Sowinski, Susana</i>	38	<i>de Cristobal, Ricardo</i>	16
<i>Castro-Sowinski, Susana</i>	57	<i>De Falco, Pablo Daniel</i>	16
<i>Castro-Sowinski, Susana</i>	59	<i>De Falco, Pablo Daniel</i>	34

Índice de Autores

<i>De la Noval Pons, Blanca</i>	19	<i>Fábio, Pedrosa</i>	59
<i>De la Noval Pons, Blanca</i>	75	<i>Fabra, Adriana</i>	21
<i>de Lorenzo, Victor</i>	55	<i>Fabra, Adriana</i>	36
<i>de Luca, Marcos</i>	31	<i>Fabra, Adriana</i>	50
<i>De Lucca, Florencia</i>	20	<i>Fabra, Adriana</i>	51
<i>de Moura Rocha, Maurisrael</i>	40	<i>Fabra, Adriana</i>	61
<i>de Oliveira, Danilo</i>	33	<i>Fabra, Adriana</i>	69
<i>de Oliveira, Danilo Messias</i>	69	<i>Fabra, Adriana</i>	73
<i>de Souza Vicente, Marlei</i>	48	<i>Fareleira, Paula</i>	56
<i>de Souza, Emanuel</i>	59	<i>Fareleira, Paula</i>	63
<i>Deanna, Rocío</i>	74	<i>Fasciglione, Gabriela</i>	70
<i>Deanna, Rocío</i>	70	<i>Fernández Garello, Pablo</i>	41
<i>Del Papa, Florencia</i>	78	<i>Fernández Scavino, A.</i>	43
<i>Del Papa, María Florencia</i>	46	<i>Fernandez, Ana</i>	60
<i>Del Papa, María Florencia</i>	54	<i>Fernández, LoiretFG</i>	75
<i>del Pino, Amabelia</i>	75	<i>Fernández, María</i>	64
<i>Delgado Rodríguez, Ana Isabel</i>	63	<i>Ferrando, L</i>	43
<i>Díaz Coronel, Gorki</i>	65	<i>Ferrari, Walter</i>	52
<i>Dini, Beatriz</i>	20	<i>Ferrari, Walter</i>	71
<i>Domínguez, María Soledad</i>	45	<i>Ferrari, Walter</i>	77
<i>Doumitt, Camilios-Neto</i>	59	<i>Ferreira, Eduara</i>	47
<i>Dourado, Ana Catarina</i>	63	<i>Ferreira, Emiliano</i>	26
<i>Dowd, Scott</i>	64	<i>Ferreira, Eugénio</i>	41
<i>Durman, Sandra</i>	51	<i>Ferreira, Eugénio</i>	63
<i>Durman, Sandra</i>	51	<i>Ferreira, Laura</i>	61
<i>Echegaray, Roberto</i>	46	<i>Ferrera-Cerrato, Ronald</i>	54
<i>Echevarría, Romina</i>	36	<i>Ferreyra, Gimena</i>	72
<i>Emanuel, Souza</i>	59	<i>Fibach-Paldi, Sharon</i>	57
<i>Enrico, J.M.</i>	39	<i>Figueira, Etelvina</i>	65
<i>Ernst, Oswaldo</i>	20	<i>Fillipone, Paula</i>	16
<i>Ernst, Oswaldo</i>	22	<i>Fioretti, Mariela</i>	78
<i>Espeche, Clara</i>	32	<i>Fischer, Sonia</i>	31
<i>Espinosa Urgel, Manuel</i>	58	<i>Fischer, Sonia</i>	58
<i>Espinoza Burgos, Constanza</i>	37	<i>Fischer, Sonia</i>	77
<i>Espinoza Burgos, Constanza</i>	70	<i>Flores-Félix, Jose D.</i>	76
<i>Espinoza Cerda, Sandra</i>	37	<i>Folabella, A.M.</i>	45
<i>Espinoza, Juan</i>	51	<i>Formoso, Daniel</i>	18
<i>Espuny, M. Rosario</i>	74	<i>Formoso, Daniel</i>	37
<i>Espuny, M. Rosario</i>	74	<i>France, Andrés</i>	22
<i>Estanga, Ubaldo</i>	31	<i>Frioni, Lillian</i>	45
<i>Estrada Bonilla, German</i>	69	<i>Frioni, Lillian</i>	53
<i>Estrada Bonilla, German Andres</i>	33	<i>Fukami, Josiane</i>	47
<i>Estrada de los Santos, Paulina</i>	62	<i>Furlan, Ana Laura</i>	67
<i>Estrella, María Julia</i>	65	<i>Galar, María Lina</i>	72
<i>Estrella, María Julia</i>	77	<i>Gallardo Benavente, Carla</i>	39
<i>Estrella, MJ</i>	45	<i>Gallardo Benavente, Carla</i>	70
<i>Estupiñan Véliz, Kleber</i>	65	<i>Garat, Luis</i>	65
<i>Fabiano, Elena</i>	38	<i>Garbi, Mariana</i>	47
<i>Fabiano, Elena</i>	45	<i>García, IV</i>	45
<i>Fabiano, Elena</i>	55	<i>García, Juan Jose</i>	18
<i>Fabiano, Elena</i>	55	<i>García, Julia Elena</i>	39
<i>Fabiano, Elena</i>	56	<i>García, Patricia</i>	36
<i>Fabiano, Elena</i>	57	<i>García, Patricia</i>	52
<i>Fabiano, Elena</i>	59	<i>García, Silvina</i>	69
<i>Fabiano, Elena</i>	59	<i>García, Silvina</i>	75
<i>Fabiano, Elena</i>	63	<i>García-Fraile, Paula</i>	76

Índice de Autores

<i>Garrido Rubiano, María Fernanda</i>	36	<i>Hungria, Mariangela</i>	59
<i>Garrido Rubiano, María Fernanda</i>	34	<i>Hungria, Mariangela</i>	62
<i>Geloso, Valeria</i>	51	<i>Hungria, Mariangela</i>	62
<i>Ghío, Silvina</i>	61	<i>Hungria, Mariangela</i>	79
<i>Giachino, Victoria</i>	16	<i>Ibañez, Fernando</i>	36
<i>Giachino, Victoria</i>	34	<i>Ibañez, Fernando</i>	73
<i>Giacomo Donato, Jose Luis</i>	31	<i>Irigoyen, Alfredo</i>	18
<i>Gill, Paul. R.</i>	72	<i>Irigoyen, Alfredo</i>	37
<i>Giordano, Walter</i>	69	<i>Irisarri, Pilar</i>	33
<i>Giordano, Walter F.</i>	57	<i>Irisarri, Pilar</i>	61
<i>Giusti, María de los Angeles</i>	46	<i>Jackson, Trevor</i>	15
<i>Giusti, María de los Angeles</i>	78	<i>Jácome López, Germán</i>	65
<i>Godino, Agustina</i>	58	<i>Jardim Freire, João Ruy</i>	48
<i>Gomes, Douglas F.</i>	58	<i>Jaurena, Martín</i>	75
<i>Gomes, Douglas F.</i>	59	<i>Jean-Jacques, Drevon</i>	60
<i>Gomez, María</i>	63	<i>Jiménez-Guerrero, Irene</i>	74
<i>González Cañizares, Pedro J.</i>	46	<i>Jiménez-Guerrero, Irene</i>	74
<i>Gonzalez Fiqueni, Fernanda</i>	27	<i>Jin, Haojie</i>	69
<i>Gonzalez Fiqueni, Fernanda</i>	51	<i>Jin, Haojie</i>	76
<i>Gonzalez Fiqueni, Fernanda</i>	51	<i>Jofré Fernández, Ignacio</i>	37
<i>Gonzalez, Alda</i>	18	<i>Jofre, Edgardo</i>	58
<i>Gonzalez, Ana Julia</i>	71	<i>Jofré, Edgardo</i>	31
<i>Gonzalez, Elena</i>	78	<i>Jofré, Edgardo</i>	52
<i>González, Pablo</i>	17	<i>Jofré, Edgardo</i>	71
<i>González, Pablo</i>	44	<i>Jofré, Edgardo</i>	77
<i>González, Rosalía</i>	35	<i>Juarez, J.A.</i>	45
<i>González-Buitrago, Jose M</i>	61	<i>Juncal, Manuel</i>	17
<i>González-Paredes, Yessica</i>	54	<i>Labadie, Vanessa</i>	21
<i>Gouvêa Rumjanek, Norma</i>	40	<i>Labandera, Carlos</i>	25
<i>Graham, Peter</i>	33	<i>Lagares, Antonio</i>	46
<i>Grassano, Alicia</i>	40	<i>Lagares, Antonio</i>	53
<i>Grassano, Alicia</i>	52	<i>Lagares, Antonio</i>	54
<i>Grassano, Alicia</i>	36	<i>Lagares, Antonio</i>	71
<i>Guasch-Vidal, Beatriz</i>	74	<i>Lagares, Antonio</i>	78
<i>Guerra-Nossa, Alejandra</i>	19	<i>Lage, Martin</i>	18
<i>Guerra-Nossa, Alejandra</i>	52	<i>Lage, Martin</i>	37
<i>Guidí, Verónica</i>	72	<i>Lage, Martin</i>	37
<i>Guiñazú, Lorena</i>	20	<i>Lage, Martin</i>	46
<i>Guiñazú, Lorena</i>	43	<i>Lagurara, Paula</i>	63
<i>Guisti, María de los Angeles</i>	54	<i>Lami, Jesus</i>	16
<i>Gutierrez, Alejandra</i>	18	<i>Larraburu, Ezequiel Enrique</i>	71
<i>Gutierrez, Pamela</i>	53	<i>Larraburu, Ezequiel Enrique</i>	71
<i>Guzmán Arrausi, Francisco</i>	37	<i>Larraburu, Ezequiel Enrique</i>	71
<i>Hackembruch, Fernando</i>	38	<i>Lascano, Ramiro</i>	44
<i>Haghjou, Tandis</i>	32	<i>Lascano, Ramiro</i>	70
<i>Harispe, Laura</i>	18	<i>Lascano, Ramiro</i>	72
<i>Hatting, Justin</i>	19	<i>Lascano, Ramiro</i>	74
<i>Helisson, Faoro</i>	59	<i>Lepek, Viviana C.</i>	73
<i>Hernández, Luis Eduardo</i>	69	<i>Lerner, Anat</i>	57
<i>Hernández, W.A.</i>	45	<i>Lett, Lina</i>	27
<i>Herridge, David</i>	30	<i>Lezama, Felipe</i>	75
<i>Hipperdinger, Marcela</i>	18	<i>Lezama, Felipe</i>	69
<i>Hume, Michael</i>	64	<i>Lima, Daniela</i>	72
<i>Hungria, Mariangela</i>	31	<i>Liziane, Brusamarello-Santos</i>	59
<i>Hungria, Mariangela</i>	47	<i>Llorente, Berta Elizabet</i>	71
<i>Hungria, Mariangela</i>	58	<i>Llorente, Berta Elizabeth</i>	71

Índice de Autores

<i>Llorente, Berta Elizabeth</i>	71	<i>Martinez Aguilar, Lourdes</i>	62
<i>Lodeiro, Aníbal</i>	53	<i>Martinez, L.A.</i>	39
<i>Lodeiro, Aníbal R.</i>	35	<i>Martinez, Natalia</i>	25
<i>Lodeiro, Aníbal R.</i>	76	<i>Martinez, Sebastian</i>	17
<i>Lodeiro, Anibal Roberto</i>	76	<i>Martinez, Sebastian</i>	44
<i>Loperena, Lyliam</i>	22	<i>Martinez-Molina, Eustoquio</i>	61
<i>Loperena, Lyliam</i>	41	<i>Martinez-Molina, Eustoquio</i>	68
<i>López García, Silvina</i>	73	<i>Martinez-Molina, Eustoquio</i>	76
<i>Lopez Lastra, Claudia</i>	18	<i>Martinez-Romero, Esperanza</i>	62
<i>Lopez Lastra, Claudia</i>	18	<i>Martinez-Romero, Esperanza</i>	54
<i>López Lastra, Claudia</i>	19	<i>Martinez-Romero, María Esperanza</i>	72
<i>Lopez Lauenstein, Diego</i>	44	<i>Martini, Car</i>	78
<i>López Sánchez, Raúl</i>	65	<i>Martini, Carla</i>	54
<i>López, A.O.</i>	45	<i>Martini, María Carla</i>	46
<i>López, José Luis</i>	78	<i>Martos, Gustavo Gabriel</i>	32
<i>Lopez, Leonel</i>	17	<i>Massena Reis, Veronica</i>	26
<i>Lopez, M. Florencia</i>	35	<i>Massena Reis, Veronica</i>	48
<i>López, María Florencia</i>	73	<i>Matan, Ofra</i>	57
<i>Lopez, Silvina M.Y.</i>	62	<i>Mateos, Pedro F.</i>	68
<i>López-Baena, Francisco Javier</i>	74	<i>Mateos, Pedro F.</i>	61
<i>López-Baena, Francisco Javier</i>	74	<i>Mateos, Pedro F.</i>	76
<i>López-Guerrero, Martha G.</i>	72	<i>Mayans, Maria</i>	37
<i>Lopez-Lopez, Aline</i>	62	<i>Mayans, Maria</i>	46
<i>Lorda, Graciela</i>	37	<i>Mayans, María</i>	42
<i>Lorenzo, Adelay</i>	19	<i>McIntosh, Graeme</i>	30
<i>Lorenzo, Adelay</i>	75	<i>Medeot, Daniela</i>	35
<i>Lorite, María José</i>	65	<i>Medeot, Daniela</i>	71
<i>Lozano, Mauricio</i>	46	<i>Medina Basso, Nicolás</i>	27
<i>Lozano, Mauricio</i>	54	<i>Medina Basso, Nicolás</i>	46
<i>Lozano, Mauricio Javier</i>	78	<i>Medina Basso, Nicolás</i>	46
<i>Luna, Flavia</i>	72	<i>Medina Basso, Nicolás</i>	50
<i>Lupo, Sandra</i>	17	<i>Medina García, Laura</i>	50
<i>Lupo, Sandra</i>	17	<i>Medina, Karina</i>	19
<i>Lupo, Sandra</i>	34	<i>Megías, Esau</i>	63
<i>Lupo, Sandra</i>	41	<i>Megías, Esaú</i>	64
<i>Lupo, Sandra</i>	44	<i>Megías, Manuel</i>	63
<i>M. Hirsch, Ann</i>	62	<i>Megías, Manuel</i>	49
<i>Macaroni, Lucas</i>	47	<i>Megías, Manuel</i>	64
<i>Magnoni, J.M.</i>	45	<i>Melchiorre, Mariana</i>	44
<i>Magnoni, M.J.</i>	45	<i>Melchiorre, Mariana</i>	72
<i>Mailhos, Milagros</i>	18	<i>Melchiorre, Mariana</i>	74
<i>Malcuori, Enrique</i>	28	<i>Mendoza Cid, Daniela</i>	39
<i>Manescotto, Martín</i>	47	<i>Mendoza Cid, Daniela</i>	70
<i>Manfrino, Romina</i>	18	<i>Mendoza Labrador, Jonathan Alberto</i>	36
<i>Manfrino, Romina</i>	19	<i>Mendoza, RE</i>	45
<i>Maquieira, Ana María</i>	22	<i>Mendoza-López, María Remedios</i>	54
<i>Marcela, Montecchia</i>	37	<i>Mendoza-Vargas, Alfredo</i>	72
<i>Mareque, Cintia</i>	38	<i>Menendez, Ana Bernardina</i>	77
<i>Mareque, Cintia</i>	38	<i>Menéndez, Esther</i>	61
<i>Mareque, Cintia</i>	45	<i>Menéndez, Esther</i>	68
<i>Marina, María</i>	77	<i>Menéndez, Esther</i>	76
<i>Marquetti, I.</i>	19	<i>Menna, Pamela</i>	62
<i>Marquetti, I.</i>	75	<i>Mercante, Virginia</i>	73
<i>Martín Alonso, Gloria M.</i>	46	<i>Mezquiriz, Néstor</i>	47
<i>Martin, Pedro</i>	40	<i>Michelle, Tadra-Sfeir</i>	59
<i>Martín, Valentina</i>	19	<i>Mioneto, Ana</i>	17

Índice de Autores

<i>Mioneto, Ana</i>	44	<i>Parada Ibañez, Maribel</i>	39
<i>Molina, Romila</i>	49	<i>Parada Ibañez, Maribel</i>	70
<i>Molina, Romina</i>	56	<i>Parodi, Gerardo</i>	75
<i>Molina, Romina</i>	56	<i>Pastor, Nicolas</i>	20
<i>Mondino, Pedro</i>	17	<i>Pastor, Nicolas</i>	43
<i>Mondino, Pedro</i>	22	<i>Pastorino, Graciela Noemi</i>	62
<i>Montañez, Adriana</i>	31	<i>Patrón, Gustavo</i>	17
<i>Monteleone, María Emilia</i>	47	<i>Penna, Claudio</i>	27
<i>Monza, Jorge</i>	33	<i>Penon, Eduardo Augusto</i>	16
<i>Monza, Jorge</i>	39	<i>Penon, Eduardo Augusto</i>	34
<i>Monza, Jorge</i>	44	<i>Pentreath, Vivien</i>	78
<i>Monza, Jorge</i>	61	<i>Peña Astorga, Nelson</i>	39
<i>Mora Silva, Washington</i>	65	<i>Peña Astorga, Nelson</i>	70
<i>Moreira, Fatima</i>	60	<i>Pereira, Sofia</i>	65
<i>Morel, Maria</i>	38	<i>Pereira, Willian</i>	47
<i>Morel, Maria</i>	67	<i>Pereyra, Alejandra</i>	35
<i>Moreno Galván, Andrés Eduardo</i>	34	<i>Pereyra, Alejandra</i>	54
<i>Moreno Ramírez, Lizbeth</i>	54	<i>Pereyra, Cintia M.</i>	54
<i>Moreno, Nubia C.</i>	28	<i>Pereyra, Silvia</i>	20
<i>Moretti, Enrique</i>	46	<i>Pérez Giménez, Julieta</i>	76
<i>Mori, Gladys</i>	52	<i>Pérez Hernández, Guianeya</i>	46
<i>Mori, Gladys</i>	58	<i>Pérez, Carlos</i>	22
<i>Moyano, Damián</i>	72	<i>Pérez, Carlos A.</i>	20
<i>Muñoz, Nacira</i>	70	<i>Pérez-Montaño, Francisco</i>	74
<i>Muñoz, Nacira</i>	72	<i>Pérez-Montaño, Francisco</i>	74
<i>Muñoz, Nacira</i>	74	<i>Perticari, A.</i>	28
<i>Muñoz, Vanina</i>	73	<i>Perticari, A.</i>	39
<i>Murillo Solano, José</i>	34	<i>Perticari, Alejandro</i>	27
<i>Murúa, L.A.</i>	39	<i>Perticari, Alejandro</i>	28
<i>Musso, Marcos</i>	41	<i>Perticari, Alejandro</i>	39
<i>Nievas, Fiorela L.</i>	57	<i>Perticari, Alejandro</i>	42
<i>Nogueira, Marco</i>	47	<i>Peyrou, Mercedes</i>	22
<i>O´Hara, Graham</i>	30	<i>Pezzani, Fabiana</i>	66
<i>O´Hara, Graham</i>	31	<i>Pezzani, Fabiana</i>	66
<i>Okon, Yaacov</i>	57	<i>Pezzani, Fabiana</i>	69
<i>Okon, Yaacov</i>	58	<i>Pezzani, Fabiana</i>	75
<i>Olivares, Fabio Lopes</i>	66	<i>Piccinetti, C.</i>	39
<i>Olivares, José</i>	65	<i>Pieckenstain, Fernando Luis</i>	77
<i>Olivera, Silvia</i>	67	<i>Pierantonelli, María Belen</i>	49
<i>Ollero, Francisco Javier</i>	49	<i>Pierantonelli, María Belén</i>	56
<i>Ollero, Francisco Javier</i>	74	<i>Pierantonelli, María Belén</i>	56
<i>Ollero, Francisco Javier</i>	74	<i>Pino, O.</i>	19
<i>Ollero, Javier</i>	64	<i>Pino, O.</i>	75
<i>Ormeño-Orrillo, Ernesto</i>	54	<i>Pistorio, Mariano</i>	46
<i>Ormeño-Orrillo, Ernesto</i>	62	<i>Pistorio, Mariano</i>	54
<i>Ortega Delgado, Eduardo</i>	19	<i>Pistorio, Mariano</i>	77
<i>Ortega Delgado, Eduardo</i>	75	<i>Pistorio, Mariano</i>	78
<i>Ortega, Eduardo</i>	75	<i>Platero Labrucherie, Raul A.</i>	55
<i>Ortega, Eduardo</i>	75	<i>Platero, Raúl</i>	45
<i>Otero-Jiménez, Vanessa</i>	19	<i>Pobliti, Lucrecia</i>	35
<i>Otero-Jiménez, Vanessa</i>	52	<i>Porro, Juan</i>	17
<i>Otero-Jiménez, Vanessa</i>	64	<i>Pradel Gonzalez, Osvaldo</i>	70
<i>Pacente, Ezequiel</i>	42	<i>Príncipe, Analía</i>	71
<i>Pagliero, Fabiola</i>	37	<i>Príncipe, Analía</i>	77
<i>Palladino, Cintia</i>	22	<i>Puente, Mariana</i>	44
<i>Parada Ibañez, Maribel</i>	37	<i>Puente, Mariana Laura</i>	39

Índice de Autores

<i>Pueyo, Ivan</i>	51	<i>Roncallo Fandiño, Belisario Antonio</i>	34
<i>Punschke, Karina</i>	37	<i>Ronchi, Ana Lía</i>	40
<i>Quelas, Juan Ignacio</i>	76	<i>Ronchi, Ana Lía</i>	52
<i>Quesada Pérez, José Miguel</i>	58	<i>Ronchi, Ana Lía</i>	36
<i>Quillehauquy, Victoria</i>	70	<i>Rosas, Susana Beatriz</i>	20
<i>Racca, Roberto W.</i>	25	<i>Rosas, Susana Beatriz</i>	43
<i>Ramírez, Juan F.</i>	46	<i>Rosconi, Federico</i>	55
<i>Ramírez-Bahena, Helena</i>	61	<i>Rosconi, Federico</i>	56
<i>Rariz Mollo, G</i>	43	<i>Rosconi, Federico</i>	57
<i>Rebuffo, Monica</i>	33	<i>Rosconi, Federico</i>	59
<i>Rebuffo, Mónica</i>	26	<i>Rose Adele, Monteiro</i>	59
<i>Rebuffo, Mónica</i>	39	<i>Roseli, Wassem</i>	59
<i>Rebuffo, Mónica</i>	44	<i>Rossi, Alejandro</i>	27
<i>Reis Junior, Fabio</i>	63	<i>Rossi, Fernando</i>	52
<i>Reis Junior, Fabio</i>	64	<i>Rossi, Fernando</i>	71
<i>Reis, Veronica M.</i>	47	<i>Rossi, Fernando</i>	77
<i>Resch, G.F.</i>	39	<i>Rovera, Marisa</i>	20
<i>Retamal Fontannaz, Javier</i>	37	<i>Rovera, Marisa</i>	43
<i>Ribeiro Xavier, Gustavo</i>	40	<i>Rueda Paramo, Manuel</i>	18
<i>Ribeiro, Renan</i>	62	<i>Ruiz Sainz, Jose Enrique</i>	76
<i>Riera, Nadia</i>	20	<i>Ruiz, Dante</i>	47
<i>Riera, Nadia</i>	50	<i>Ruiz, OA</i>	45
<i>Rivas Franco, Federico</i>	20	<i>Ruiz, Oscar</i>	65
<i>Rivas, Federico</i>	42	<i>Ruiz, Rafael</i>	17
<i>Rivas, Noelia</i>	25	<i>Ruiz, Rafael</i>	44
<i>Rivas, Raul</i>	76	<i>Ruiz-Sainz, José Enrique</i>	35
<i>Rivas, Raúl</i>	68	<i>Russell, Horacio</i>	30
<i>Rivera Espinosa, Ramón</i>	46	<i>Russell, Horacio</i>	65
<i>Rivera, Lina P</i>	61	<i>Russell, Horacio</i>	77
<i>Rivera, Lina P</i>	68	<i>Sainz, Jose Ruiz</i>	69
<i>Rivera, Lina P</i>	76	<i>Salas, Eugenia</i>	54
<i>Rivero, Romina</i>	71	<i>Salas, Maria Eugenia</i>	46
<i>Riviera Espinosa, Ramón A.</i>	27	<i>Salas, María Eugenia</i>	78
<i>Robert, German</i>	74	<i>Salazar, Irian</i>	75
<i>Robert, Germán</i>	70	<i>Salto, Cesar</i>	19
<i>Robert, Germán</i>	72	<i>Salto, Ileana</i>	54
<i>Roberto, Díaz</i>	25	<i>Salto, Ileana</i>	78
<i>Robledo, Marta</i>	68	<i>Sampaio Videira, Sandy</i>	69
<i>Rocco, RA</i>	45	<i>San Román, Pablo</i>	35
<i>Rodrigues, Sandra</i>	41	<i>Sánchez Torterolo, Máximo</i>	61
<i>Rodríguez Blanco, Andrea</i>	53	<i>Sanchéz, Cintia Mariana</i>	73
<i>Rodríguez Blanco, Andrea</i>	64	<i>Sanchez, Maximo</i>	33
<i>Rodríguez Cáceres, Enrique</i>	47	<i>Sánchez, Nancy Jacqueline</i>	41
<i>Rodríguez Navarro, Dulce Nombre</i>	42	<i>Sandal, Niels</i>	69
<i>Rodríguez Navarro, Dulce Nombre</i>	69	<i>Sandal, Niels</i>	76
<i>Rodríguez Navarro, Dulce Nombre</i>	76	<i>Sandoval-Lozano, Andres</i>	19
<i>Rodríguez, Andrea</i>	75	<i>Sandoval-Lozano, Andres</i>	52
<i>Rodríguez, Marianela</i>	74	<i>Sanhueza Sanhueza, Rocío</i>	39
<i>Rodríguez, Marianela</i>	70	<i>Sanjuan, Juan</i>	39
<i>Rodríguez, Pablo</i>	31	<i>Sanjuán, Juan</i>	25
<i>Rodríguez, Pablo Ismael</i>	16	<i>Sanjuán, Juan</i>	61
<i>Rodríguez, Pablo Ismael</i>	34	<i>Sanjuán, Juan</i>	65
<i>Rodríguez-Villamizar, Fernando</i>	19	<i>Sanjurjo, Lucía</i>	45
<i>Rodríguez-Villamizar, Fernando</i>	52	<i>Sannazzaro, Al</i>	45
<i>Rogel, Marco</i>	62	<i>Sannazzaro, Analía</i>	65
<i>Romero, Fernando Matias</i>	77	<i>Santiago, Cesar</i>	55

Índice de Autores

<i>Santillana Villanueva, Nery Luz</i>	21	<i>Tornatore, Adriana</i>	16
<i>Santillana Villanueva, Nery Luz</i>	53	<i>Tornatore, Adriana</i>	34
<i>Saravia, Verónica</i>	41	<i>Torres Navarrete, Emma</i>	65
<i>Sartori, Juan Ignacio</i>	37	<i>Torres Tejerizo, Gonzalo</i>	46
<i>Scarone, Jorge</i>	40	<i>Torres Tejerizo, Gonzalo</i>	54
<i>Schapovaloff, Maria Elena</i>	18	<i>Torres Tejerizo, Gonzalo</i>	78
<i>Schapovaloff, Maria Elena</i>	18	<i>Torres, Guillermo</i>	64
<i>Schröder, Eduardo C.</i>	40	<i>Torresani, Silvia</i>	27
<i>Schultz, Nivaldo</i>	47	<i>Trovero, Fernanda</i>	57
<i>Schwenke, Graeme</i>	30	<i>Ulla, Elsa Leonor</i>	32
<i>Senatore, Daniella</i>	41	<i>Urquiaga, Segundo</i>	47
<i>Sicardi, Margarita</i>	31	<i>Vacca, Matias</i>	51
<i>Sicardi, Margarita</i>	33	<i>Vacca, Matias</i>	51
<i>Sicardi, Margarita</i>	38	<i>Valenzuela, Esteban</i>	17
<i>Sicardi, Margarita</i>	45	<i>Valter, Baura</i>	59
<i>Sicardi, Margarita</i>	53	<i>Valverde, Claudio</i>	49
<i>Sicardi, Margarita</i>	62	<i>Valverde, Claudio</i>	50
<i>Silva Pires de Castro, Clarissa</i>	15	<i>Valverde, Claudio</i>	72
<i>Silva, Horacio</i>	18	<i>Vanderleyden, Jos</i>	56
<i>Siqueira, José Oswaldo</i>	61	<i>Vanderleyden, Jos</i>	56
<i>Siutto, Ignacio</i>	65	<i>Velázquez, Encarna</i>	61
<i>Sobrero y Rojo, María del Pilar</i>	16	<i>Velázquez, Encarna</i>	68
<i>Sobrero y Rojo, María del Pilar</i>	34	<i>Velázquez, Encarna</i>	76
<i>Sobrino-Plata, Juan</i>	69	<i>Verga, Aníbal</i>	44
<i>Sorroche, Fernando G.</i>	57	<i>Vero, Silvana</i>	20
<i>Spaepen, Stijn</i>	56	<i>Vero, Silvana</i>	21
<i>Spaepen, Stijn</i>	56	<i>Vicario, Julio</i>	69
<i>Speranza, Pablo</i>	64	<i>Vidal, Márcia Soares</i>	66
<i>Stegmayer, Alberto René</i>	32	<i>Videira e Castro, Isabel</i>	41
<i>Stein, Beatriz</i>	32	<i>Videira e Castro, Isabel</i>	65
<i>Stougaard, Jens</i>	69	<i>Videira e Castro, Isabel</i>	65
<i>Stougaard, Jens</i>	76	<i>Villamil Bangel, Eliane</i>	27
<i>Stronati, Mónica</i>	78	<i>Villamil Bangel, Eliane</i>	48
<i>Sturmer, Sidney Luiz</i>	61	<i>Villar, Andrés</i>	22
<i>Taulé, Cecilia</i>	32	<i>Villar, H. Andrés</i>	20
<i>Taulé, Cecilia</i>	38	<i>Vincent, Paula A</i>	16
<i>Taulé, Cecilia</i>	45	<i>Vinicius, Weiss</i>	59
<i>Taulé, Cecilia</i>	78	<i>Vinuesa, Pablo</i>	62
<i>Taurian, Tania</i>	21	<i>Viscarra Alvarez, Tamara</i>	39
<i>Taurian, Tania</i>	50	<i>Viscarra Alvarez, Tamara</i>	70
<i>Taurian, Tania</i>	51	<i>Vita, Federico</i>	47
<i>Taurian, Tania</i>	61	<i>Vizgarra, Oscar</i>	32
<i>Temprano Vera, Francisco J.</i>	42	<i>Vogrig, Jimena Andrea</i>	66
<i>Temprano, Francisco</i>	69	<i>Volfson, Victoria</i>	57
<i>Temprano, Francisco</i>	76	<i>Welin, Bjorn</i>	16
<i>Thuar, Alicia María</i>	41	<i>Xiqui Vazquez, María L.</i>	54
<i>Tiscornia, Susana</i>	17	<i>Yanes, María Lis</i>	16
<i>Tiscornia, Susana</i>	17	<i>Yanes, María Lis</i>	34
<i>Tiscornia, Susana</i>	34	<i>Yanni, Youssef</i>	68
<i>Tiscornia, Susana</i>	44	<i>Yommi, Alejandra</i>	70
<i>Tonelli, María Laura</i>	21	<i>Zabaleta, María</i>	38
<i>Tonelli, María Laura</i>	50	<i>Zabaleta, María</i>	45
<i>Tongiani, Silvana</i>	18	<i>Zabaleta, María</i>	63
<i>Tonucci, Facundo</i>	65	<i>Zorrilla, Hernán</i>	26
<i>Tordable, María del Carmen</i>	69	<i>Zúñiga Dávila, Doris</i>	21
<i>Tordable, María del Carmen</i>	73	<i>Zúñiga Dávila, Doris</i>	53

Lista de Participantes

Nombre	Institución	País	Correo electrónico
<i>Aguerre, Tabaré</i>	Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca	Uruguay	
<i>Altier Manzini, Nora</i>	INIA	Uruguay	naltier@inia.org.uy
<i>Amarelle, Vanesa</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	vanasha07@gmail.com
<i>Amigo, Josefina Alejandra</i>	Facultad de Agronomía y Zootecnia - Universidad Nacional de Tucumán	Argentina	jaamigo@faz.unt.edu.ar
<i>Angelini, Jorge</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	jangelini@exa.unrc.edu.ar
<i>Anzuay, María Soledad</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	manzuay@exa.unrc.edu.ar
<i>Araujo, Solon C. de</i>	Stoller do Brasil Ltda	Brasil	solon@scaconsultoria.com.br
<i>Arias, Alicia</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	aarias@iibce.edu.uy
<i>Azziz, Gastón</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	gazziz@gmail.com
<i>Bajsa, Natalia</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	nbajsa@iibce.edu.uy
<i>Balatti, Pedro Alberto</i>	Universidad Nacional de La Plata	Argentina	pbalatti@gmail.com
<i>Baldani, Vera</i>	Embrapa	Brasil	vera@cnpab.embrapa.br
<i>Bangel, Eliane</i>	Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária-Fepagro	Brasil	eliane-bangel@fepagro.rs.gov.br ou microbiologia@fepagro.rs.gov.br
<i>Bao, Leticia</i>	Facultad de Agronomía	Uruguay	letibaof@yahoo.com
<i>Barlocco, Claudia</i>	Facultad de Ciencias, UdelaR	Uruguay	bioclau83@hotmail.com
<i>Batista, Jesiane S. S.</i>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil	micro_jesi@yahoo.com.br
<i>Batista, Silvia</i>	IIBCE	Uruguay	silvia@iibce.edu.uy
<i>Batista Montesano, Leticia Paola</i>	Facultad de Agronomía	Uruguay	ibatista@fagro.edu.uy
<i>Battistoni, Federico</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	batti@iibce.edu.uy
<i>Beracochea, Martín</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	beracochea@gmail.com
<i>Bettiol, Wagner</i>	Embrapa Meio Ambiente	Brasil	bettiol@cnpma.embrapa.br
<i>Bettucci, Lina</i>	Facultad de Ciencias, UDELAR	Uruguay	bettucci@fing.edu.uy
<i>Beyhaut, Elena</i>	INIA	Uruguay	ebeyhaut@inia.org.uy
<i>Bonilla Buitrago, Ruth Rebeca</i>	Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica	Colombia	rbonilla@corpoica.org.co
<i>Borsani, Omar</i>	Facultad de Agronomía, UDELAR	Uruguay	oborsani@fagro.edu.uy
<i>Braga, Lucía</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable	Uruguay	lucibraganan@gmail.com
<i>Bruno, Carla Valeria</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	cbruno@ayv.unrc.edu.ar
<i>Bruzzese, Daniela</i>	Barenbrug Palaversich	Argentina	danielabruzzese@yahoo.com.ar
<i>Buschmann Jr., Rubens Carlos</i>	Novozymes BioAg Produtos para a Agricultura Ltda	Brasil	rcbj@novozymes.com
<i>Caetano-Anolles, Gustavo</i>	University of Illinois	Estados Unidos	gca@illinois.edu
<i>Camargo, Danny</i>	Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Agronomía-UDELAR	Uruguay	danny.camargo24@gmail.com
<i>Cardeillac, Arianne</i>	Departamento de Bioquímica y Genómica Microbiana, IIBCE	Uruguay	acardeillac@gmail.com
<i>Carletti, Susana</i>	Universidad Nacional de Luján	Argentina	carletti@mail.unlu.edu.ar
<i>Carrillo Beltrán, Diego Antonio</i>	Universidad de La Frontera	Chile	n.pena01@ufromail.cl
<i>Cassan, Fabricio Darío</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto (Stoller)	Argentina	fcassan@exa.unrc.edu.ar
<i>Castaño, Rosana Carolina</i>	Universidad Nacional de La Pampa	Argentina	carolinacastanio@gmail.com
<i>Castro, Stella</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	scaastro@exa.unrc.edu.ar
<i>Castro Sowinski, Susana</i>	Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República	Uruguay	s.castro.sow@gmail.com
<i>Chávez Díaz, Lucía Valeria</i>	Instituto de Fitopatología y fisiología vegetal	Argentina	luchavezdiaz@gmail.com
<i>Chiofalo, Laura</i>	Laboratorios Biagro SA	Argentina	lchiofalo@biagrosa.com
<i>Corallo, Ana Belén</i>	Laboratorio de Micología. Facultad de Ciencias e Ingeniería (UDELAR)	Uruguay	belcorall@hotmail.com
<i>Corrêa Marques de Mello, Sueli</i>	Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia	Brasil	smello@cenargen.embrapa.br
<i>Costa, Diana</i>	Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales Facultad de Ciencias- UdelaR	Uruguay	dianacosta@cin.edu.uy
<i>Covelli, Julieta</i>	Universidad Nacional de La Plata	Argentina	jcovelli@biol.unlp.edu.ar
<i>Craig, Elena Beatriz</i>	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJAN	Argentina	craigelena@yahoo.com.ar
<i>Creus, Cecilia</i>	Barenbrug-Palaversich	Argentina	ccreus@balcarce.inta.gov.ar
<i>Da Rosa, Fanny</i>	DGSA, MGAP	Uruguay	fdarosa@mgap.gub.uy
<i>Dardanelli, Marta Susana</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	mdardanelli@exa.unrc.edu.ar

Lista de Participantes

Nombre	Institución	País	Correo electrónico
<i>de Barros Soares, Luis Henrique</i>	Embrapa Agrobiologia	Brasil	luis.henrique@cnpab.embrapa.br
<i>de Luca, Marcos Javier</i>	Embrapa-INTA-UEL	Brasil	marcosjde@gmail.com
<i>Deanna, Rocío</i>	Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal	Argentina	rociodeanna@gmail.com
<i>Díaz, Marisa Celina</i>	Rizobacter Argentina SA	Argentina	mdiaz@rizobacter.com.ar
<i>Díaz, Roberto</i>	INIA	Uruguay	rdiaz@inia.org.uy
<i>Domínguez, María Soledad</i>	CAISE s.a. / Universidad Nacional de Mar del Plata	Argentina	soledaddominguez7@gmail.com
<i>drevon, jean jacques</i>	INRA	Francia	drevonjj@supagro.inra.fr
<i>Durman, Sandra</i>	Laboratorios Biagro SA	Argentina	sdurman@biagrosa.com
<i>Espinoza Burgos, Constanza</i>	Universidad de la Frontera	Chile	constanzaespinozab@gmail.com
<i>Espinoza Cerda, Sandra Carolina</i>	Universidad de La frontera	Chile	s.espinoza01@ufromail.cl
<i>Estrada de los Santos, Paulina</i>		México	pestradadelossantos@gmail.com
<i>Estrella, María Julia</i>	IIB-INTECH	Argentina	estrella@intech.gov.ar
<i>Fabiano, Elena</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	elena.fabiano@gmail.com
<i>Fabra, Adriana</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	afabra@exa.unrc.edu.ar
<i>Fasciglione, Gabriela</i>	Universidad Nacional de Mar del Plata - Facultad Cs Agrarias	Argentina	gabrielafasciglione@yahoo.com.ar
<i>Fernández, Pablo</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable	Uruguay	p.fernandezgarello@gmail.com
<i>Fernández Scavino, Ana</i>	Facultad de Química, Universidad de la República (UdelaR)	Uruguay	afernand@fq.edu.uy
<i>Ferrari, Walter</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	ferrariwalter@gmail.com
<i>Ferreira, Emiliano</i>	Asinagro	Uruguay	asinagro@adinet.com.uy
<i>Ferrer, Marcelo</i>	INTA	Argentina	mferrer@pergamino.inta.gov.ar
<i>Fischer, Sonia</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	sfischer@exa.unrc.edu.ar
<i>France, Andrés</i>	INIA	Chile	afrance@inia.cl
<i>Furlan, Ana Laura</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	afurlan@exa.unrc.edu.ar
<i>García, Patricia</i>	Universidad Nacional de La Pampa	Argentina	patricia_garciaarhex@yahoo.com.ar
<i>García Esquibel, Silvina Pilar</i>	Facultad de Agronomía, UDELAR	Uruguay	silvipgarcia@gmail.com
<i>Garrido Rubiano, María Fernanda</i>	Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica	Colombia	mgarrido@corpoica.org.co
<i>Giusti, María de los Ángeles</i>		Argentina	lagares@biol.unlp.edu.ar
<i>Gonzalez Fiqueni, María Fernanda</i>	laboratorios BIAGRO SA	Argentina	mfernanda@biagrosa.com
<i>Gonzalez Paredes, Yessica</i>	Colegio de Postgraduados	México	gopyess@hotmail.com
<i>Grassano, Alicia</i>	Universidad Nacional de la Pampa	Argentina	aliciagrassano@hotmail.com
<i>Haghjou, Tandis</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable	Uruguay	tandiss@gmail.com
<i>Harispe, Laura</i>	Institut Pasteur de Montevideo	Uruguay	sc@pasteur.edu.uy
<i>Hernandez Lois, Guillermina</i>	Síntesis Química SAIC	Argentina	direccion@sintesisquimica.com.ar
<i>Herridge, David</i>	University of New England, Armidale, NSW	Australia	david.herridge@industry.nsw.gov.au
<i>Hungria, Mariangela</i>	Embrapa Soja	Brasil	hungria@cnpso.embrapa.br
<i>Irigoyen, Alfredo</i>	Instituto Plan Agropecuario	Uruguay	irigoyen@planagropecuario.org.uy
<i>Jackson, Trevor</i>	AgResearch, Lincoln Research Centre	Nueva Zelanda	trevor.jackson@agresearch.co.nz
<i>Jofré, Edgardo</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	ejofre@exa.unrc.edu.ar
<i>Jofré Fernández, Ignacio Andrés</i>	Universidad de La Frontera	Chile	ignaziojf@gmail.com
<i>Labandera, Carlos</i>	ALAR	Uruguay	clabandera@adinet.com.uy
<i>Lagares, Antonio</i>		Argentina	lagares@biol.unlp.edu.ar
<i>Lage, Martín</i>	Lage Y Cia S.A.	Uruguay	lagement@lageycia.com
<i>Lagurara, Paula</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	plagurara@gmail.com
<i>Larraburu, Ezequiel Enrique</i>	Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Nacional de Luján	Argentina	eze1031@yahoo.com.ar
<i>Lascano, Hernan Ramiro</i>	IFFIVE-INTA	Argentina	hrlascano@correo.inta.gov.ar
<i>Lima Cortinas, Daniela Paula</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable	Uruguay	daniela@iibce.edu.uy
<i>Lodeiro, Anibal Roberto</i>	Universidad Nacional de La Plata	Argentina	lodeiro@biol.unlp.edu.ar
<i>Loperena, Lylíam</i>	Facultad de Ingeniería, UDELAR	Uruguay	lilianl@fing.edu.uy
<i>López, María Florencia</i>	Universidad Nacional de La Plata	Argentina	mfl@biol.unlp.edu.ar

Lista de Participantes

Nombre	Institución	País	Correo electrónico
López García, Silvina Laura	Universidad Nacional de La Plata	Argentina	pitylg@biol.unlp.edu.ar
Lopez Lastra, Claudia	CEPAVE- UNLP_conicet	Argentina	claudia@cepave.edu.ar
Pobliti, Lucrecia	Barenbrug Palaversich	Argentina	lucrepo@hotmail.com
Luizzi, Hugo	Universidad de la República - Facultad de Ciencias	Uruguay	hluizzi@hotmail.com
Luna, María Flavia	CINDEFI (UNLP: CCT-La Plata, CONICET), Facultad de Cs. Exactas, CIC-PBA	Argentina	mafla@quimica.unlp.edu.ar
Mailhos, Milagros	Institut Pasteur de Montevideo	Uruguay	sc@pasteur.edu.uy
Malcuori, Enrique	Conaprole	Uruguay	emalcuori51@gmail.com
Maquieira, Ana María	LATU	Uruguay	anammaquieira@gmail.com
Mareque Acosta, Cintia	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	cmareque@gmail.com
Martín Russo, Valentina	Facultad de Química	Uruguay	vmartin@fq.edu.uy
Martínez, Natalia	Proyecto de Producción Responsable, MGAP	Uruguay	nmartinez@mgap.gub.uy
Massa, Rosana	Stoller do Brasil Ltda	Brasil	romassa2001@yahoo.com.ar
Massena Reis, Veronica	Embrapa Agrobiologia	Brasil	veronica@cnpab.embrapa.br
Mayans, María del Carmen	MGAP	Uruguay	mmayans74@hotmail.com
Medina Basso, Nicolás	Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas	Cuba	medinabasso@gmail.com
Megias Guijo, Manuel	UNIVERSIDAD DE SEVILLA	España	megiasg@us.es
Melchiorre, Mariana Noemi	IFFIVE-INTA	Argentina	mmelchiorre@correo.inta.gov.ar
Mendoza Cid, Daniela Ruth	Universidad de La Frontera	Chile	d.mendoza01@ufromail.cl
Mercante, Virginia	Instituto de Investigaciones Biotecnológicas IIB-UNSAM-INTECH-CONICET	Argentina	virginiamercante@hotmail.com
Mondino, Pedro	Facultad de Agronomía-UdelaR	Uruguay	pmond@fagro.edu.uy
Monteleone, María Emilia	Nitrasoil Argentina S.A.	Argentina	emonteleone@nitrasoil.com.ar
Montero, Fabio Andrés	Rizobacter Argentina S.A	Argentina	fmontero@rizobacter.com.ar
Moreira, Fatima	Universidade Federal de Lavras	Brasil	fmoreira@dcs.ufla.br
Morel, María	IIBCE	Uruguay	mmorel@iibce.edu.uy
Moreno, Nubia	Universidad Nacional de Colombia	Colombia	ncmorenos@unal.edu.co
Muñoz, Vanina Laura	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	vmunoz@exa.unrc.edu.ar
Muñoz, Nacira	Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal	Argentina	naciramunoz@yahoo.com
Nogueira, Marco	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil	nogueira@cnpso.embrapa.br
O'Hara, Graham	Murdoch University	Australia	g.ohara@murdoch.edu.au
Okon, Yaacov	The Hebrew University of Jerusalem	Israel	okon@agri.huji.ac.il
Olivares, Fabio L.	UENF/CBB/LBCT	Brasil	fabio.olivares@gmail.com
Ollero Márquez, Francisco Javier	Universidad de Sevilla	España	fjom@us.es
Ormeño, Ernesto	Universidad Nacional Autónoma de México	México	eormeno@ccg.unam.mx
Ortega, Eduardo	Universidad de La Habana	Cuba	eortega@fq.uh.cu
Otero Jiménez, Vanessa	corpoica	Colombia	vanesotjim@gmail.com
Parada Ibáñez, Maribel Eugenia	Universidad de La Frontera	Chile	mparada@ufro.cl
Penna, Claudio	Stoller do Brasil Ltda	Brasil	c_a_penna@yahoo.com.ar
Peña Astorga, Nelson Octavio	Universidad de La Frontera	Chile	n.pena01@ufromail.cl
Pereyra, Alejandra	Barenbrug Palaversich	Argentina	ccreus@balcarce.inta.gov.ar
Pérez Giménez, Julieta	Universidad Nacional de La Plata	Argentina	jpg@biol.unlp.edu.ar
Perticari, Alejandro	INTA IMYZA	Argentina	aperticari@cnia.inta.gov.ar
Peyrou, Mercedes	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	mercedes@iibce.edu.uy
Pezzani, Fabiana	Facultad de Agronomía, UDELAR	Uruguay	fabiana@fagro.edu.uy
Pistorio, Mariano	IBBM, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP	Argentina	pistorio@biol.unlp.edu.ar
Platero Labrucherie, Raúl Alberto	Centro Nacional de Biotecnología. CSIC.	España	rplatero@cnb.csic.es
Pradel Gonzalez, Osvaldo	Universidad de La Frontera	Chile	o.pradel09@gmail.com
Quelas, Juan Ignacio	Universidad Nacional de La Plata	Argentina	quelas@biol.unlp.edu.ar
Racca, Roberto Walter	INTA	Argentina	rwracca@gmail.com
Rariz, Gastón	Facultad de Ciencias, UdelaR	Uruguay	gastonrariz@gmail.com

Lista de Participantes

Nombre	Institución	País	Correo electrónico
<i>Rebuffo, Mónica</i>	Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria	Uruguay	mrebuffo@inia.org.uy
<i>Ribeiro, Renan</i>	Embrapa-Soja	Brasil	renanribeiro83@hotmail.com
<i>Riera Faraone, Nadia Sofía</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	nadiarierafara@gmail.com
<i>Rivas, Federico</i>	Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria	Uruguay	frivas@lb.inia.org.uy
<i>Rivera Rodríguez, Lina Patricia</i>	UNIVERSIDAD DE SALAMANCA	España	lpr@usal.es
<i>Robles Beltrán, Gustavo Eduardo</i>	Universidad de La Frontera	Chile	n.pena01@ufromail.cl
<i>Rodríguez Blanco, Andrea</i>	Facultad de Agronomía, UdeLaR	Uruguay	andrearb@fagro.edu.uy
<i>Rodríguez Cáceres, Enrique</i>	Universidad Nacional de Luján	Argentina	erodriguezcaceres@gmail.com
<i>Rodríguez Navarro, Dulce Nombre</i>	IFAPA, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía. España	España	dulcenombre.rodriguez@juntadeandalucia.es
<i>Romero, Fernando Matias</i>		Argentina	mromero@intech.gov.ar
<i>Ronchi, Analía</i>	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA	Argentina	alronchi@hotmail.com
<i>Rosas, Susana</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Australia	srosas@exa.unrc.edu.ar
<i>Rosconi, Federico</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	federh@iibce.edu.uy
<i>Rossi, Fernando</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	frossi@exa.unrc.edu.ar
<i>RUIZ, Oscar</i>	IIB-INTECH	Argentina	ruiz@intech.gov.ar
<i>Ruiz-Sainz, José Enrique</i>	Universidad de Sevilla	España	rsainz@us.es
<i>Russell, Horacio</i>	FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS-U.D.E.	Uruguay	horaciorussell@gmail.com
<i>Salas, María Eugenia</i>		Argentina	eugesalas@biol.unlp.edu.ar
<i>Sánchez Torterolo, Máximo Augusto</i>	Facultad de Agronomía UDELAR	Uruguay	msanchez@fagro.edu.uy
<i>Sanhueza Sanhueza, Rocio Belén</i>	Universidad de La Frontera	Chile	trova.23@hotmail.com
<i>Sanjuan, Juan</i>	ESTACION EXPERIMENTAL DEL ZAIDIN-CSIC	España	juan.sanjuan@eez.csic.es
<i>Sannazzaro, Analía</i>	IIB-INTECH	Argentina	analía@intech.gov.ar
<i>Saraiva Castanheira, Nadia Luisa</i>	Instituto Instituto de Tecnología Química e Biológica (ITQB) e Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INRB), I.P.	Portugal	nadia.castanheira@itqb.unl.pt
<i>Sartori, Juan Ignacio</i>	Lage y Cia. S.A.	Uruguay	jsartori@lageycia.com
<i>Scarabel, Daniela</i>	Stoller do Brasil Ltda	Brasil	daniela@stoller.com.br
<i>Schröder, Eduardo</i>	University of Puerto Rico	Puerto Rico	eschroder5596@yahoo.com
<i>Senatore, Daniella</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	nanisen@gmail.com
<i>Souza, Emanuel M. de</i>	Universidade Federal do Paraná	Brasil	souzaem@ufpr.br
<i>Stronati, Monica</i>	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PATAGONIA	Argentina	strom@unpata.edu.ar
<i>Sturmer, Sidney Luiz</i>	Universidade Regional de Blumenau - FURB	Brasil	sturmer@furb.br
<i>Taulé, Cecilia</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)	Uruguay	ctaule@iibce.edu.uy
<i>Taurian, Tania</i>	UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO	Argentina	ttaurian@exa.unrc.edu.ar
<i>Thuar, Alicia Maria</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto-Fac. de Agronomía y veterinaria	Argentina	athuar@ayv.unrc.edu.ar
<i>Tonelli, María Laura</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	mtonelli@exa.unrc.edu.ar
<i>Tonucci, Facundo</i>	IIB-INTECH	Argentina	ftonucci@intech.gov.ar
<i>Torres Tejerizo, Gonzalo Arturo</i>	IBBM, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP	Argentina	gatt@biol.unlp.edu.ar
<i>Trovero, María Fernanda</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable	Uruguay	maferetro@gmail.com
<i>Valverde, Claudio</i>	Universidad Nacional de Quilmes	Argentina	cvalver@unq.edu.ar
<i>Vero, Silvana</i>	Facultad de Química-UdeLaR	Uruguay	svero@fq.edu.uy
<i>Vicario, Julio Cesar</i>	Universidad Nacional de Río Cuarto	Argentina	jvicario@exa.unrc.edu.ar
<i>Videira e Castro, Isabel Maria</i>	Instituto Nacional dos Recursos Biológicos	Portugal	isabel.castro@inrb.pt
<i>Vincent, Paula</i>	INSIBIO (UNT-CONICET)	Argentina	pvincent@fbqf.unt.edu.ar
<i>Vogrig, Jimena Andrea</i>	Facultad de Agronomía - Universidad de Buenos Aires	Argentina	vogrig@agro.uba.ar
<i>Wassem, Roseli</i>	Universidade Federal do Paraná	Brasil	wassem@ufpr.br
<i>Willemoes, Jorge</i>		Argentina	rad@biagrosa.com
<i>Xavier, Gustavo R.</i>	Embrapa	Brasil	gustavo@cnpab.embrapa.br
<i>Yanes, María Lis</i>	Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable	Uruguay	lisyanes@gmail.com

XXV Reunión Latinoamericana de Rizobiología

I Congreso Nacional de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal



50 años de investigación en inoculantes como estrategia de desarrollo sostenible (1960-2011)

Piriápolis, Maldonado, Uruguay, Setiembre 4 al 9, 2011

Auspiciantes



Patrocinantes



www.alaronline.org