

AISLAMIENTO DE RIZOBIOS PROVENIENTES DE SUELOS DE NUESTRO PAIS

A. Supanitsky¹, D. Russo², W. Draghi², L. Wall³ and A. Zorreguieta²

¹INTI Centro de Celulosa y Papel, ²Fundación Instituto Leloir

³ Departamento de Ciencia y Tecnología Universidad Nacional de Quilmes
asupanit@inti.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La producción agropecuaria ocurre a expensas de la explotación del suelo. La capacidad de renovación del mismo se ve afectada por el tipo de práctica agrícola que se emplee y el mal uso del suelo lleva a que dicho recurso deje de ser renovable, teniendo graves consecuencias ambientales y en la productividad. Dicha productividad está determinada por las distintas comunidades que habitan en él, así resultan de especial interés las bacterias fijadoras de Nitrógeno atmosférico, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y los microorganismos con propiedades de biocontrol de agentes patógenos para los cultivos.

OBJETIVO

Como objetivo general se busca estudiar el impacto de las distintas formas de manejo del suelo sobre las poblaciones de rizobios, a través de su capacidad de colonización de superficies.

En el presente trabajo, nos enfocamos en obtener aislamientos de rizobios, simbioses de leguminosas, a partir de muestras de suelos sometidos a diferentes prácticas agrícolas. Dicho trabajo se realizó en el marco del Proyecto de Área Estratégica (PAE) plurianual : BIOLOGÍA DEL SUELO Y PRODUCCIÓN AGRARIA SUSTENTABLE.

DESCRIPCIÓN

Se tomaron muestras de suelos provenientes de 4 localidades que se identificaron como: B-Córdoba 1, M-Córdoba 2, P-Buenos Aires y V-Entre Rios.

Dentro de cada una de las 4 localidades bajo estudio se muestrearon zonas con diferentes tipos de prácticas agrícolas que se clasificaron en: A-Ambiente natural, B-Buenas prácticas agropecuarias y M-Malas prácticas agropecuarias. Surgen así 12 muestras de suelo, identificadas como:

BA: Córdoba 1 – Ambiente Natural

BB: Córdoba 1 – Buenas Practicas

BM: Córdoba 1 – Malas Practicas

MA: Córdoba 2 – Ambiente Natural

MB: Córdoba 2 – Buenas Practicas

MM: Córdoba 2 – Malas Practicas

PA: Buenos Aires – Ambiente Natural

PB: Buenos Aires – Buenas Practicas

PM: Buenos Aires – Malas Practicas

VA: Entre Ríos – Ambiente Natural

VB: Entre Ríos – Buenas Practicas

VM: Entre Ríos – Malas Practicas

Para conseguir aislar rizobios a partir de las muestras de suelo fue necesario utilizar plantas trampa, hospedadoras naturales de dichas bacterias. Como plantas modelo empleamos: Siratro (*Macroptilium atropurpureum*) y Poroto negro (*Phaseolus vulgaris*). Las semillas se esterilizaron para su posterior germinación: en poroto se utilizó etanol 70% e hipoclorito de sodio (10g/l) y en Siratro ácido sulfúrico concentrado.

Las semillas esterilizadas se pasaron a placas de petri con agar agua 1% en esterilidad y se dejaron germinar en oscuridad durante 2 o 3 días. Las semillas germinadas se transplantaron a recipientes adecuados conteniendo el medio de crecimiento de cada planta, libre de nitrógeno para favorecer la nodulación

Las semillas germinadas de siratro se transplantaron a tubos de ensayo anchos conteniendo medio Jensen con suplementos en 1% agar (Fig.1); las semillas de poroto se pasaron a macetitas con vermiculita estéril que fueron "regadas" con medio líquido Farhaeus (Fig.2).



Figura 1: Plantas de Siratro

Para inocular las plantas se realizó una extracción con agua bidestilada a partir cada una de las muestras de suelo, obteniéndose 12 suspensiones. Con cada suspensión se

inocularon tres réplicas. Se dejaron plantas control sin inocular.



Figura 2: Plantas de Poroto

Las plantas fueron inoculadas a los 5 días de ser transplantadas y se crecieron durante 28 días post inoculación en Siratro y durante 31 días en Poroto, tiempo necesario para el desarrollo de nódulos en las raíces. Al cabo de este tiempo se extrajeron los nódulos y se esterilizaron con etanol 100% y agua oxigenada de 30 volúmenes.

Los rizobios fueron aislados a partir de un machacado de nódulos utilizando medio TY como medio de suspensión (previa esterilización de los mismos).

En placas de petri con medio TY agar y YEM agar (0,5% manitol), se estriaron con escarbadientes cada una de las suspensiones de nódulos preparadas. Las placas de medio TY se incubaron a 28° C durante 5 y las de medio YEM durante 9 días.

RESULTADOS

Siratro: Se obtuvieron entre 1 y 15 nódulos por planta (Fig.3). Hubo plantas con buen desarrollo que no presentaron nódulos en las tres réplicas (Ambiente natural y Buenas prácticas). Nódulos en estudio.



Figura 3: Nódulos en raíces de planta de Siratro

Poroto negro: Se obtuvieron entre 2 y 120 nódulos por planta (Fig.4), aunque el número de nódulos por tratamiento se mantuvo dentro de un mismo orden en cada réplica.



Figura 4: Nódulos en raíces de planta de Poroto

Hasta el momento se consiguieron 81 aislamientos provenientes de las tres prácticas agropecuarias: 38 de Ambiente Natural, 13 de Malas prácticas y 30 de buenas Prácticas. El estudio continúa.

De los dos modelos de planta señuelo utilizados podemos decir que el Poroto negro forma mayor número de nódulos por planta que Siratro. En todos los tratamientos realizados el número de Nódulos en Poroto fue siempre superior al de Siratro.

Por otro lado, podemos agregar que los nódulos analizados en Poroto fueron susceptibles a la infección, ya que se obtuvieron aislamientos en casi el 100% de los casos.

Se pretende caracterizar los aislamientos y estudiar formación de biofilm para correlacionarlo con la historia de cada suelo de origen de las bacterias.

-El presente trabajo se enmarca en un proyecto de tesis doctoral centrado en el estudio de biofilms bacterianos.
-Los dos primeros autores ejecutaron en forma compartida la parte experimental del trabajo.
-Cabe destacarse la colaboración permanente de los Centros de Agroalimentos y de Biotecnología Industrial, en especial del Laboratorio de Microbiología de alimentos a través de instalaciones, equipamiento y asistencia en general