

# AISLAMIENTO DE RIZOBIOS DE ARACHIS CORRENTINA SILVESTRE Y SUELO CAPACES DE NODULAR ARACHIS HYPOGAEA CV. GRANOLEICO

Gonzalez P.J.<sup>1</sup>, Seijo J.G.<sup>2-3</sup>, Melchiorre M.N.<sup>1-4</sup>

1-INTA- Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales, Unidad de Estudios Agropecuarios 2-Instituto de Botánica del Nordeste (UNNE-CONICET) 3-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, FaCENA-UNNE

4-UNC- Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales

gonzalez.pablojavier@inta.gob.ar

## Introducción

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) realizada simbióticamente por las leguminosas juega un papel crucial en los enfoques agroecológicos que tienen como objetivo maximizar la producción de alimentos promoviendo una utilización más sostenible de las tierras agrícolas, reduciendo a su vez, los efectos ambientales negativos provocados por el uso de fertilizantes sintéticos. Las evidencias ponen de manifiesto la importancia de lograr relaciones simbióticas eficientes entre los cultivos y los microsimbiontes afines. Este trabajo tiene el objetivo de explorar nuevas cepas nativas de rizobios a partir de nódulos de plantas de genotipos silvestres afines a *Arachis hypogaea*, así como de los suelos donde ellas se distribuyen para ensayar su nodulación en plantas trampa de *A. hypogaea* cv. Granoleico. Incrementar la diversidad de rizobacterias y conocer su capacidad de fijación permitirá contar con alternativas para nuevas formulaciones de inoculantes

## Materiales y Métodos

Se seleccionaron 10 sitios geoposicionados de poblaciones de *Arachis correntina*, en la provincia de Corrientes y de cada uno se tomaron muestras de suelo y dos plantas de *A. correntina*. Para la obtención de nódulos a partir de plantas trampa de *A. hypogaea* cv. granoleico, se desinfectaron las semillas superficialmente y se realizaron ensayos de nodulación utilizando como sustrato el suelo muestreado en cada punto, en condiciones controladas durante 25 días o hasta la aparición de nódulos. Para el aislamiento de rizobios, se separaron nódulos de la raíz principal y fueron desinfectados superficialmente con NaClO 0,3% y Tween-20 0,01% durante 5 min. Luego fueron enjuagados con agua en condiciones de esterilidad y macerados y sembrados con ansa en estrías por agotamiento en medio Levadura Manitol Agar (LMA) con Rojo Congo. Las placas de Petri se incubaron a 28°C por 5 días. A partir de colonias aisladas, se estudiaron las características micromorfológicas, tintoriales y la excreción de ácido o base al medio de cultivo mediante la siembra en medio LMA pH 6,8 con azul de bromotimol (ABT) y LMA pH 5,5 adicionado con púrpura de bromocresol (PBC). El viraje de los indicadores a amarillo permite inferir la acidificación del medio y el viraje del ABC a azul y de PBC a púrpura indica alcalinización. De cada punto de colecta, se seleccionó una colonia bacteriana que cumplió con los criterios elegibles para ser considerado rizobio. Se realizó la extracción de ADN de todas las cepas aisladas y se analizaron por PCR-BOX antes de evaluar la capacidad de nodular *A. hypogaea* cv. granoleico.

## Resultados

Se obtuvo un total de 42 aislados bacterianos, de los cuales 33 corresponden a nódulos de *A. correntina* y 9 a nódulos de planta trampa de *A. hypogaea* cv. granoleico crecidas en suelos correntinos. En un primer análisis surge que todos los aislados fueron Gram negativos y que seis de los aislados fueron productores de ácido en ambos medios, y cuatro productores de álcali, indicando que podrían tratarse de cepas del género *Bradyrhizobium* y *Rhizobium* respectivamente. El análisis de PCR-BOX reveló que solo dos aislados presentaron perfil de amplificación similar, indicando que el resto de los aislados son distintos entre sí. Finalmente, el ensayo de nodulación de *A. hypogaea* cv. granoleico reveló que la mayoría de los aislados provenientes de *A. correntina* fueron capaces de nodular *A. hypogaea* cv. granoleico, sin embargo, el número de nódulos por planta fue entre 2 y 10 veces mayor cuando se utilizaron los aislados provenientes de nódulos de plantas trampa de cv granoleico. Los nódulos obtenidos eran de color rosado en su interior, indicando que se tratarían de nódulos efectivos y funcionales.

## Conclusiones

Se puede concluir que las plantas de especies silvestres de *Arachis* son una fuente potencial de nuevos bioinoculantes, sin embargo, el suelo también lo es y el ensayo con plantas trampas demuestra que el genotipo estaría ejerciendo una fuerte selección reclutando del suelo aquellos rizobios más afines. Al presente, estos aislamientos están siendo caracterizados molecularmente y aún resta determinar sus aportes en términos de FBN y crecimiento en *A. hypogaea* cv. Granoleico.