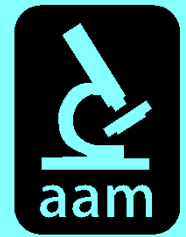




**V**

Congreso Argentino  
de Microbiología  
Agrícola y Ambiental



# Libro de Resúmenes

**15, 16 y 17 de septiembre de 2021**

**Modalidad Virtual**

**Centro de Convenciones Sergio Karakachoff de la  
Universidad Nacional de La Plata, La Plata,  
Argentina.**

### **Comisión Directiva de la AAM**

**Presidente:** Gustavo Giusiano  
**Vicepresidente:** Paula Gagetti  
**Secretaria:** Verónica Vogt  
**Secretaria de actas:** Inés García de Salamone  
**Prosecretario:** Juan Stupka  
**Tesorero:** Roberto Suárez Álvarez  
**Protesorera:** Marina Bottiglieri  
**Vocal Titular 1º:** María Cecilia Freire  
**Vocal Titular 2º:** Oscar Alberto Taboga  
**Vocal Titular 3º:** Pablo Power  
**Vocal Titular 4º:** Fabiana Guglielmone  
**Vocal Suplente 1º:** Adriana Sucari  
**Vocal Suplente 2º:** Marcelo Berretta  
**Vocal Suplente 3º:** Manuel Gómez Carrillo  
**Vocal Suplente 4º:** Leonora Nusblat  
**Vocal Suplente 5º:** Ricardo Rodríguez  
**Vocal Suplente 6º:** Mariano Pérez Filgueira  
**Comisión Revisora de Cuentas:** María I. G. Fernandez  
María Mercedes Ávila

### **Comisión Directiva de la DIMAYA**

**Presidente:** Anibal Lodeiro  
**Vicepresidente:** Diego Sauka  
**Secretaria:** Natalia Fernández  
**Secretaria de Actas:** Luciana Di Salvo  
**Tesorerera:** Susana Vázquez  
**Vocal Titular 1º:** Olga Correa  
**Vocal Titular 2º:** María Cecilia Mestre  
**Vocal Suplente 1º:** Inés García de Salamone  
**Vocal Suplente 2º:** Julieta Pérez Giménez

### **COMISIÓN ORGANIZADORA V CAMAyA**

---

**Presidente:** Aníbal Lodeiro. UNLP-CONICET  
**Vicepresidente:** Inés E. García de Salamone. FAUBA  
**Secretaria General:** Silvina López García. UNLP- CONICET  
**Secretaria Científica:** Julieta Pérez Giménez. UNLP- CONICET  
**Secretario Técnica:** Diego Sauka. INTA-CONICET  
**Secretaria de Actas:** Bibiana Coppotelli. UNLP-CONICET  
**Secretaria de Finanzas:** Luciana Di Salvo. FAUBA-CONICET

#### **Comité Científico:**

**Gonzalo A. Torres Tejerizo.** IBBM - CCT La Plata Fac. Cs. Exactas – UNLP  
**Tania Taurian.** INIAB– UNRC-CCT CONICET CORDOBA  
**Julián Rafael Dib.** PROIMI- CCT CONICET NOA SUR  
**Natalia Gottig.** IBR-CCT CONICET ROSARIO-UNR.  
**Verónica Patricia Irazusta.** INIQUI -CCT CONICET SALTA-JUJUY  
**Carlos Gabriel Nieto Peñalver.** PROIMI- CCT CONICET NOA SUR  
**Cecilia Quiroga.** IMPaM – CONICET-UBA  
**Marcelo Berretta.** IMYZA, INTA Castelar-CONICET

#### **Comité Técnico:**

**Carlos F. Piccinetti.** IMYZA, INTA Castelar  
**Mauricio J. Lozano.** IBBM - CCT La Plata Fac. Cs. Exactas – UNLP  
**María Julia Althabegoiti.** IBBM - CCT La Plata Fac. Cs. Exactas – UNLP  
**Sabrina Festa.** CINDEFI - CCT La Plata  
**Camila Castro.** CINDEFI - CCT La Plata

# V CAMAyA

## Disertantes invitados

### Conferencias Plenarias

**Kornelia Smalla** (Julius Kühn-Institut (JKI), Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics. Alemania).

**Heike Knicker** (CSIC - Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), Sevilla, España).

**Pablo Iván Nikel** (The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability – Technical University of Denmark, Lyngby, Dinamarca).

**Ford Denison** (University of Minnesota, Estados Unidos).

**Silvia Cardona** (Department of Microbiology, Faculty of Science, Universidad de Manitoba, Winnipeg, Canada).

**Luz De Bashan** (Centro de Investigaciones Biológicas Del Noroeste, La Paz, México- The Bashan Institute of Science, Dadeville Estados Unidos).

### Mesas Redonas

**María Fernanda Achinelly** (CEPAVE-CONICET-UNLP)

**Andrea Albarracin Orio** (IRNASUS-CONICET, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Córdoba)

**María Julieta Ansaldi** (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la República Argentina)

**Federico Battistoni** (Instituto Clemente Estable, Uruguay)

**Eliana Bianucci** (INIAB-CONICET-UNRC)

**Nadia Chalfoun** (ITANOA-CONICET-EEAOC)

**Susana Checa** (IBR-CONICET-UNR)

**Eduardo Corton** (IQUIBICEN-CONICET-UBA)

**Rosana De Castro** (IIB-CONICET-UNMdP)

**María Eugenia Farías** (Centro Científico Tecnológico CONICET-Tucumán. Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos)

**Marcela Ferrero** (YPF Tecnología S.A.)

**Sonia Fischer** (INIAB-CONICET-UNRC)

**José Eduardo González Pastor** (Department of Molecular Evolution Centro de Astrobiología (CSIC-INTA) Madrid, España)

**Leandro Guerrero** (INGEBI-CONICET)

**Gabriel Iglesias** (UNQ-CONICET)

**Edgardo Jofre** (INBIAS-CONICET-UNRC)

**German Kopprio** (Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries, Berlín)

**Flavia del Valle Loto** (PROIMI-CONICET)

**Mónica Lugo** (MICODIF y IMIBIO-CONICET- UNSL)

**Rossana Madrid** (INSIBIO-CONICET-UNT)

**María Martha Martorell** (Instituto Antártico Argentino)

**Alejandro Peticari** (AER INTA Concarán, San Luis)

**Mariano Pistorio** (IBBM-CONICET-UNLP)

**Maria Carolina Quecine Verdi** (Department of Genetics-College of Agriculture "Luiz de Queiroz" (ESALQ)-University of São Paulo, Brasil)

**Cecilia Quiroga** (IMPam – CONICET – UBA)

**Verónica Rajal** (INIQUI-CONICET-UNSa)

**Marcela Sangorrín** (PROBIEN-CONICET - UNCOMA)

**Ana Fernández Scavino** (Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay)

**Michael Seeger Pfeiffer** (Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile)

**Luciana Carla Silvestri** (Instituto de Ciencias Humanas, Sociales y Ambientales del Consejo Nacional **Roberto Suárez Álvarez** (ANLIS-INEI "Dr. Carlos G. Malbrán) Colombia).

**Silvia Toresani** (Facultad de Ciencias Agrarias- Universidad Nacional de Rosario)

**Paula Tribelli** (IQUIBICEN – CONICET- UBA)

**Carolina Vera** (MINCyT-CONICET)

de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET CCT- Mendoza)

**Liliana Villegas** (INQUISAL-CONICET-UNSL)

**Pedro Zapata** (InBioMis-CONICET-UNaM)

# Auspiciantes



# Programa Científico

Día 1 - 15 / 9 / 2021

8:00 - 9:00

Inscripción

9:00 - 9:30

Apertura del Congreso

9:30 - 10:30

Auditorio 1

Kornelia Smalla

Hacia una agricultura más sustentable mediante el manejo de los microbiomas del suelo

10:30 - 11:00

Intervalo

11:00 - 12:00

Auditorio 1

Pablo Iván Nikel

Redundancia metabólica como mecanismo de adaptación en bacterias ambientales

12:00 - 12:15

Intervalo

12:15 - 13:00

Posters

P-AG-01 / 02 / 03 / 04 / 08 / 09 / 10 / 12 / 14 / 15 / 17 / 25 / 28 / 29 / 39 / 44 / 45 / 48 / 52 / 54 / 55 / 57 / 58 / 59 / 61 / 63 / 68 / 79 / 80 / 86 / 87 / 88 / 90 / 91 / 92  
P-AM-04 / 11 / 12 / 15 / 21 / 29 / 32 / 33 / 34 / 38 / 39 / 40 / 41 / 48 / 49 / 50 / 51 / 52

13:00 - 13:30

Intervalo

13:30 - 15:00

Auditorio 1

MR1 Ecología e interacciones microbianas en el suelo  
Coordinadores: Jorge Angelini - Claudio Valverde  
Actividad conjunta DiMAyA-SAMIGE

Mónica Lugo

Sonia Fischer

Andrea Albarracin Orio

"Eywa" - Interconectando interacciones en el suelo

Aplicación de bacteriocinas para el control biológico de enfermedades bacterianas en plantas

La interacción entre *Bacillus subtilis* y *Setophoma terrestris* como modelo para entender la evolución de los mecanismos de antagonismo entre microorganismos

Auditorio 2

MR2 Visiones ómicas integradas sobre procesos de biodegradación  
Coordinadora: Betiana Garavaglia

Diego Jimenez

Michael Seeger

Marcela Ferrero

An innovative top-down enrichment strategy to guide the design of minimal and versatile lignocellulolytic microbial consortia

Estrategias microbiológicas para una agricultura sustentable en tiempos de cambio climático

Microarray data provide new insights into catabolic capacities of an aromatic-degrading actinomycete strain

15:00 - 15:15

Intervalo

15:15 - 16:45

MR3 Factores ambientales que afectan a los microorganismos  
Coordinador: Hipólito Pajot

José González-Pastor

Eliana Bianucci

German Kopprio

Exploración de nuevos mecanismos de resistencia a condiciones extremas y sus aplicaciones en biotecnología

Impacto de metales pesados y metaloides sobre microorganismos rizosféricos

Factores ambientales detrás de la distribución de *Vibrio cholerae* y comunidades bacterianas en el estuario del río Negro

MR4 Biosensores

Coordinador: Pedro Zapata

Eduardo Corton

Susana Checa

Rossana Madrid

Diseño de biosensores y bioensayos con detección electroquímica. Utilización del principio de la celda de combustible como un transductor de bajo costo, pequeño y descartable

Diseño racional de biosensores bacterianos de metales tóxicos. Hacia la generación de un panel de bio-detección de estos contaminantes, económico y simple de utilizar

Biosensores: Nuevas tecnologías en ayuda de la Agricultura de precisión

16:45 - 17:15

Intervalo

17:15 - 18:15

Comunicaciones orales 1

Coordinador: Marcelo Bertera

CO-AG-01

Evaluación *in vivo* de *Trichoderma* spp. nativos de Salta (Argentina) para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* en garbanzo

A. Zurita

CO-AG-03

Evaluación de la inhibición de esporas de *Trichoderma* sp. por cepas de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. para su potencial uso en biocontrol de la enfermedad del moho verde en fungicultura

C. Weth

CO-AG-04

Bacterial endophytes of brassica crops as pathogens antagonists through the production of antimicrobial compounds

F. Romero

CO-AG-05

Evaluación de dos formulados de *Pseudomonas pseudoalcaligenes* como herramienta para la promoción del crecimiento y el control de la enfermedad ocasionada por *Meloidogyne* spp. en plantas de tomate

D. Riva

CO-AG-10

Diseño y desarrollo de una estrategia de potenciación del baculovirus AcMNPV como herramienta de control de lepidópteros plaga

M. G. López

CO-AG-15

*Ralstonia pseudosolanacearum* modula la patogenicidad en plantas hospedadoras a través del fotorreceptor de tipo LOV

M. B. Ripa

Comunicaciones orales 2

Coordinador: Natalia Gottig

CO-AM-02

Desarrollo de biofiltros de flujo vertical para el tratamiento de efluentes contaminados con hidrocarburos utilizando bacterias provenientes de lodos industriales

C. Olivera

CO-AM-05

Comportamiento de la atrazina en suelos agrícolas de Córdoba y su biorremediación por el aislamiento nativo *Paenarthrobacter ureafaciens* AAC22

C. Urseler

CO-AM-09

Uso del biofilm producido por *Bacillus subtilis* para favorecer el desarrollo de *Lactuca sativa* en un sustrato contaminado con cobre

Gabriela Sarti

CO-AM-10

Determinación de la tolerancia a metales pesados en levaduras de suelo de los bosques Andino Patagónicos argentinos

M. Mestre

19:30

Fiesta de Bienvenida

**Día 2 - 16/9/2021**

9:00 - 10:00	<b>Auditorio 1</b> <b>Heike Knicker</b> <b>Interacciones entre calidad y cantidad de materia orgánica del suelo y comunidades microbianas edáficas</b>
--------------	--

10:00 - 10:20	<b>Intervalo</b>
---------------	------------------

10:20 - 10:40	<b>Auditorio 1 - Espacio reservado para empresas</b>
---------------	--

Auditorio 1			Auditorio 2		
<b>MR5 Del Laboratorio a la Industria - Espacio REDCAI (Silvia Toresani)</b> Coordinadoras: Olga Correa – Laura Raiger-Iustman Actividad conjunta DiMAyA-SAMIGE			<b>MR6 Extremófilos</b> Coordinadora: Verónica Rajal		
Nadia Chalfoun	Marcela Sangorrín	Edgardo Jofre	Maria Martha Martorell	Liliana Villegas	Paula Tribelli
Transferencia de una proteína fúngica a una empresa	Control biológico con levaduras autoctonas para enfermedades postcosecha de peras: evaluación a nivel comercial	Desarrollo y evaluación de la efectividad de formulaciones de <i>Bacillus subtilis</i> y/o <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> para el biocontrol de enfermedades causadas por fitopatógenos fúngicos y bacterianos	Biodiversidad y bioprospección de hongos filamentosos psicrotróficos de Antártida	Entornos mineros como fuente de microorganismos resistentes a metales pesados	Response to lethal UVA radiation in the Antarctic bacterium <i>Pseudomonas extremaustralis</i>

12:15 - 13:00	<b>Posters</b> P-AG-05 / 07 / 11 / 13 / 18 / 19 / 20 / 30 / 31 / 35 / 36 / 37 / 38 / 41 / 42 / 43 / 47 / 50 / 62 / 64 / 65 / 66 / 67 / 77 / 78 / 83 / 85 / 89 / 94 / 96 / 97 / 98 P-AM-01 / 02 / 06 / 08 / 13 / 14 / 17 / 18 / 19 / 26 / 28 / 35 / 36 / 44 / 45 / 47 / 53 / 54 P-OA-01 / 02 / 03 / 04 / 05
---------------	---

13:00 - 13:30	<b>Intervalo</b>
---------------	------------------

13:30 - 14:30	<b>Auditorio 1</b> <b>Silvia Cardona</b> <b>Técnicas de CRISPRi y CRISPR-Cas</b>
---------------	--

14:30 - 14:45	<b>Intervalo</b>
---------------	------------------

14:45 - 15:00	<b>Espacio de la Revista Argentina de Microbiología (Dir. Cecilia Quiroga)</b> <b>Bioprospección: investigación y desarrollo. Permisos de acceso y explotación de recursos genéticos microbianos</b> Coordinan Susana Vazquez y Silvia Toresani
15:00 - 17:30	María Julieta Ansaldo El Protocolo de Nagoya y el proceso de implementación a nivel nacional Luciana Carla Silvestri Investigación y desarrollo de recursos genéticos microbianos en Argentina: complejidades normativas y estrategias para sobrevivir María Eugenia Farías Nagoya de extremófilos para Biotec: la luz al final del túnel Alejandro Perticari Colecciones de microorganismos presentes en el INTA, Argentina. Bioprospección y otros aspectos vinculados al Protocolo de Nagoya Roberto Suárez Álvarez Colecciones de cultivos microbianos en Argentina y Protocolo de Nagoya: ¿cuál es nuestra posición actual?

17:30 - 17:40	<b>Intervalo</b>
---------------	------------------

Comunicaciones orales 3		Comunicaciones orales 4	
Coordinador: Tania Taurian		Coordinador: Bibiana Coppotelli	
CO-AG-06	El manejo del cultivo de cobertura invernal afecta el microbioma rizosférico del cultivo sucesor <i>Helianthus annuus</i> L.	CO-OA-01	Producción de fermentos: optimización, validación y caracterización de un medio de cultivo formulado a base de permeado de suero de queso
M. Morales		M. Batistela	
CO-AG-07	Estudios de diversidad microbiana en suelos hortícolas del partido de Luján	CO-OA-02	Evaluación de la capacidad biolixiviante de dos consorcios microbianos sobre mineral del proyecto minero Taca Taca, Salta, Argentina
S. Curieles		F. Massello	
CO-AG-09	Hidrogel de quitosano-almidón de grado industrial como soportes de bacterias promotoras del crecimiento vegetal para la formulación y aplicación de inoculantes microbianos	CO-OA-03	Solving the <i>Bacillus cereus</i> and <i>Bacillus thuringiensis</i> taxonomical incoherencies by genomic scale and machine learning approaches.
M. Fernandez		T. Petitti	
CO-AG-11	Dairy slurry irrigation changes soil microbial activity and fertility in a fescue pasture	CO-OA-04	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>jongajibkimchii</i> de origen marino: comportamiento en la fermentación de matrices vegetales
G. Illarze		R. Parada	
CO-AG-12	Diversidad taxonómica y funcional de bacterias solubilizadoras de fosfato del microbioma de gramíneas forrajeras presentes en suelos alcalinos-sódicos de la Pampa Deprimida del Salado		
D. Dip			

Día 3 - 17/9/2021

9:00 - 10:30	<b>Auditorio 1</b>			<b>Auditorio 2</b>		
	MR7 Usos de sistemas CRISPR-Cas en el estudio de microorganismos Coordinador: Mariano Larzabal			MR8 Biocontrol de insectos Coordinador: Nicolas Pedrini		
	Rosana De Castro	María Carolina Quecine	Leandro Guerrero	Pedro Zapata	Flavia del Valle Loto	María Fernanda Achinelly
	Aplicación de la tecnología CRISPRi para silenciar genes en las arqueas	Deciphering the beneficial plant - bacteria interaction using the CRISPR-Cas9 tool	Reconstrucción de CRISPRs a partir de metagenomas como herramienta para el estudio de las interacciones fago-bacteria en el ambiente	Potencialidades de los hongos como agentes en el control de insectos	<i>Bacillus thuringiensis</i> : aplicación al control de <i>Spodoptera frugiperda</i>	Bacterias endosimbióticas y nematodos entomopatógenos, aliados en el control biológico de plagas
10:30 - 11:00	<b>Intervalo</b>					
11:00 - 12:00	<b>Auditorio 1</b>					
	Ford Denison Las sanciones al huésped en la simbiosis rizobios leguminosas					
12:00 - 12:15	<b>Intervalo</b>					
12:15 - 13:00	<b>Posters</b>					
	P-AG-06 / 16 / 21 / 22 / 23 / 24 / 26 / 27 / 32 / 33 / 34 / 40 / 46 / 49 / 51 / 53 / 56 / 60 / 69 / 70 / 71 / 72 / 73 / 74 / 75 / 76 / 81 / 82 / 84 / 93 / 95 / 99					
	P-AM-05 / 07 / 09 / 10 / 16 / 20 / 22 / 23 / 24 / 25 / 27 / 30 / 31 / 37 / 42 / 43 / 46 P-OA-06 / 07 / 08 / 09 / 10					
13:00 - 13:30	<b>Intervalo</b>					
13:30 - 15:00	<b>Auditorio 1</b>			<b>Auditorio 2</b>		
	MR9 Microorganismos de interés agronómico Coordinador: Elías Mongiardini			MR10 SARS-CoV-2 en el ambiente Coordinador: María Paula Quiroga		
	Mariano Pistorio	Federico Battistoni	Ana Fernández Scavino	Carolina Vera	Gabriel Iglesias	Verónica Rajal
	Caracterización de la diversidad de la microbiota asociada a la rizósfera de la vid	La microbiota endofítica bacteriana y su interacción con cultivos de interés agronómico	Persistencia de bacterias de los géneros <i>Azospirillum</i> y <i>Herbaspirillum</i> e impacto de su inoculación en la microbiota diazótrofa asociada a raíces de arroz	Red de detección del SARS-CoV-2 en Aguas Residuales del MINCYT	Detección de material genético de SARS-CoV-2 en muestras ambientales de aguas residuales y material particulado PM 10	Rastreo de SARS-CoV-2 en aguas superficiales y residuales de Salta, aporte a la vigilancia epidemiológica
15:00 - 15:15	<b>Intervalo</b>					
15:15 - 16:15	<b>Comunicaciones orales 5</b> Coordinador: Verónica Irazusta			<b>Comunicaciones orales 6</b> Coordinador: Julián Dib		
	CO-AG-02	Caracterización del bacterioma intestinal de la chinche verde ( <i>Nezara viridula</i> ) en su interacción con el cultivo de soja ( <i>Glycine max</i> )		CO-AM-03	Análisis de elementos integrativos y conjugativos de tipo SXT/R391 presentes en genomas de bacterias marinas	
	B. Rosso			I. Pirajan Quintero		
	CO-AG-08	La asociación con hongos micorrízicos arbusculares mejora el crecimiento de plántulas de <i>Lotus tenuis</i> en la vecindad de plantas conespecíficas intensamente defoliadas		CO-AM-04	Sistemática Filogenética: Comparativa de metodologías evolutivas utilizadas en el análisis de datos de secuenciación profunda	
	T. Chippano			M. Badenas		
	CO-AG-13	El gen de la glicina oxidasa ( <i>thiO</i> ) como marcador de genotipos de <i>Bradyrhizobium</i> con potencial degradador del herbicida glifosato en el suelo		CO-AM-06	Caracterización de microbiomas del Museo Casa Histórica de Tucumán	
	K. Hernández Guíjarro			F. Galván		
	CO-AG-14	El sistema de dos componentes ActJK de <i>Ensifer meliloti</i> está involucrado en la resistencia a estrés por zinc y cobre		CO-AM-07	SARS-CoV-2 en ríos de Salta: evaluación de su impacto mediante análisis multicriterio de toma de decisiones	
J. Cafiero			J. Mainardi Remis			
CO-AG-16	Nodulación de plantas de vicia según condiciones de siembra y de la inoculación con rizobios		CO-AM-08	Screening de sensibilidad y resistencia a CP y su metabolito TCP en un modelo de levaduras marinas para su aplicación como bioindicadores de ecotoxicidad y degradación		
M. Gallace			G. Echeverri Jaramillo			
CO-AG-17	Actinobacterias como co-inoculantes aumentan el rendimiento de cultivo de soja a campo					
M. Solans						
16:15 - 16:45	<b>Intervalo</b>					
16:45 - 17:45	<b>Auditorio 1</b>					
	Luz De Bashan Uso de PGPB para restaurar suelos degradados en zonas aridas					
17:45 - 18:00	<b>Cierre del Congreso</b>					

# ¡Palabras de Bienvenida!

Mediante estas líneas quiero darles a todas y todos mi más cordial bienvenida al V Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental. En el marco de la pandemia de COVID-19 que estamos atravesando hemos debido planificar todas estas actividades para ser llevadas a cabo de forma virtual, pero esperamos que para los próximos eventos que organicemos, esta limitación actual sea solo un mal recuerdo. En efecto, gracias a los esfuerzos realizados en múltiples ramas de la ciencia, a los que la ciencia argentina no ha sido ajena, esta pandemia está pudiendo ser contenida y esperamos que en breve sea derrotada definitivamente.

No obstante esta situación que atraviesa el mundo, hemos podido contar con la generosa contribución de 42 expositores de diversas instituciones de 11 países, y más de 200 participantes, que han aportado 116 resúmenes del área agrícola, 64 del área ambiental y 13 relacionados con otros aspectos. Sin dudas, esta contribución al conocimiento hará que podamos realizar un rico intercambio de ideas a pesar de las limitaciones que impone la pandemia de COVID-19. Esto nos permitirá alcanzar los objetivos que nos hemos trazado cuando organizamos esta reunión, a saber: 1) Integrar a investigadores, estudiantes y profesionales del ámbito público y privado interesados en resolver el aparente dilema de mejorar la producción agrícola aumentando al mismo tiempo la sustentabilidad de los agroecosistemas y el uso racional de sus recursos. 2) Fortalecer el intercambio y la colaboración interdisciplinaria y transdisciplinaria de los grupos de trabajo, nacionales e internacionales, enfocados en los aspectos básicos y tecnológicos del impacto de los microorganismos y su biodiversidad en el medio ambiente. 3) Generar el espacio propicio para discutir estrategias y metodologías eficientes para aplicar estos desarrollos a la sustentabilidad de la vida en nuestro planeta.

No menos importante es la posible contribución que este Congreso tenga en la formación de recursos humanos a nivel doctoral, ya que permitirá el intercambio entre estudiantes de doctorado de distintas instituciones, y el contacto de éstos con profesionales de muy alto nivel tanto de nuestro país como de otros países de América y Europa. Asimismo, se han hecho presentes en el Congreso diversas empresas y organismos públicos que desarrollan sus actividades en las áreas cubiertas por el Congreso, mostrando su interés por la aplicación de los conocimientos desarrollados en el ámbito académico.

Agradeciendo por su participación, a los patrocinadores y auspiciantes por su interés y sus contribuciones, y muy especialmente a todas y todos quienes desde hace más de un año dedicaron un gran esfuerzo tanto desde el Comité Organizador como desde los Comités Técnico y Científico, sin los cuales este Congreso no hubiera sido posible, les envío mi más caluroso saludo, quedando a su entera disposición.

Dr. Aníbal Lodeiro  
Presidente del Comité Organizador del V CAMAyA  
Asociación Argentina de Microbiología

# Conferencias Plenarias



## TOWARDS A MORE SUSTAINABLE AGRICULTURE THROUGH MANAGING SOIL MICROBIOMES

Doreen Babin (1), Victoria Cerecetto (1,2), Carolina Leoni (2), Nina Bziuk (1), Alicia Balbín Suárez (1), Kornelia Smalla (1)\*

(1) Julius Kühn Institute (JKI) - Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Messeweg 11-12, 38104 Braunschweig, Germany. (2) Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa de Producción y Sustentabilidad Ambiental, Estación Experimental INIA Las Brujas, Ruta 48 Km 10, 90200 Rincón del Colorado, Canelones, Uruguay

\*kornelia.smalla@julius-kuehn.de

Sustainable agricultural production aims to meet future food, feed and fibre demands with the given natural resources and without adverse environmental impact or greater land consumption. However, conventional intensive agricultural practices resulted in reduced soil fertility and biodiversity, accumulation of plant pathogens, environmental contamination with agrochemicals and soil erosion jeopardizing soil health. We urgently need to restore soil health, i.e., with appropriate farming practices in order to ensure agricultural productivity for future generations.

In my talk I will present research insights from different collaboration projects performed under greenhouse and field conditions. Addressing different commercial crops, soil types and management systems, all studies have in common to evaluate and harness the potential of soil microbiomes for a more sustainable plant production. In commercial apple production, soils often show the problem of apple replant disease (ARD) with few management options. Growing a susceptible apple rootstock in split-root and column set-ups revealed that ARD is a local, non-spreading soil phenomenon linked to microbial dysbiosis along the soil-root continuum when compared to healthy soils. Restoration of highly degraded soils in intensive vegetable production in terms of microbial diversity, soil aggregation and nutrient availability was achieved by reduced tillage and organic amendments. In order to study the memory of soils with respect to their agricultural management, we cultivated the model plant lettuce in soils under different tillage, fertilization and pre-crop history under controlled greenhouse conditions. We observed that long-term farming practices can result in a soil biotic legacy modulating the rhizosphere microbiome and affecting the performance of subsequent crops via altered plant-microbe interactions in the rhizosphere. Plant-microbe interactions can result in enhanced resistance and tolerance of the plant towards various stresses (priming). In a greenhouse experiment with the pathosystem *Blumeria graminis*/barley, we found evidence for the effect of the soil microbiome on the plant defense response when comparing differently managed agricultural to potting soils. As an alternative to the management-dependent support of the indigenous microbiome, the external manipulation by inoculation of soils or plants with beneficial microbial strains or multi-species consortia holds great promise for an enhanced sustainable agriculture and examples from greenhouse and ongoing field experiments will be shown.

Soil microorganisms are critical for soil-related ecosystem services. Harnessing their huge untapped and largely unexplored taxonomic and functional diversity and gaining a better mechanistic understanding of plant-microbe interactions under various agricultural management practices can open up new ways to support an economically and environmentally benign plant production.

## METABOLIC REDUNDANCY AS A GENERAL ADAPTATION MECHANISM IN ENVIRONMENTAL BACTERIA

Pablo I. Nikel

Systems Environmental Microbiology Group. The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability. Denmark Technical University. Kgs Lyngby, Denmark  
pabnik@biosustain.dtu.dk

The glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) enzyme is widely distributed in nature, catalyzing the first committing step in the oxidative branch of the pentose phosphate (PP) pathway, feeding either the reductive PP or the Entner-Doudoroff pathway. Besides playing a key role in central carbon metabolism, this dehydrogenase provides reduced cofactors, affecting redox balance. Although G6PDH is typically considered to display specificity towards nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP<sup>+</sup>), some variants accept nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>) similarly—or even preferentially. Furthermore, the number of G6PDH isozymes encoded in bacterial genomes varies from none to more than four orthologues. On this background, the interplay of the three G6PDH isoforms of the soil bacterium *Pseudomonas putida* KT2440 was systematically analyzed from a genomic, genetic and biochemical perspective. *P. putida* represents an ideal model to tackle this endeavor, as its genome encodes gene orthologues for most dehydrogenases in central carbon metabolism. We show that the three G6PDHs of strain KT2440 have different cofactor specificities, and that the isoforms encoded by *zwfA* and *zwfB* carry most of the activity, acting as metabolic ‘gatekeepers’ for carbon sources that enter at different nodes of the biochemical network. I will discuss how multiplication of G6PDH isoforms is a widespread strategy in bacteria, correlating with the presence of an incomplete Embden-Meyerhof-Parnas pathway. The abundance of G6PDH isoforms in these species goes hand-in-hand with low NADP<sup>+</sup> affinity at least in one isozyme. Gene duplication and relaxation in cofactor specificity is proposed as an evolutionary strategy towards balancing the relative production of NADPH and NADH.

## INTERACTIONS BETWEEN QUALITY AND QUANTITY OF SOIL ORGANIC MATTER AND SOIL MICROBIAL COMMUNITIES

Heike Knicker (1, 2)

(1) Unidad del servicio de RMN en estado sólido. (2) Departamento de Biogeoquímica, ecología vegetal y microbiana, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Sevilla, Spain  
knicker@irnase.csic.es

The relationship between soil, plant and microorganisms comprises highly diverse dependencies. Composed of mineral fragments and organic matter at different stages of humification, soils cover a wide range of surface properties and micro-environments that affect nutrient availability for microbial survival and activity. As a consequence, changes in the soil physical state and the addition of any materials (raw organic, inorganic materials or synthetic chemicals) to the soil, has a paramount impact on the activity of soil biota. As the main energy source for soil microbiota, soil organic matter (SOM) plays a major role in this plant/microorganism/soil interplay. Its quality and accessibility define size and composition of the soil microbiome and as a consequence the availability of nutrients for plants which are liberated during its decomposition. Exogenous organic materials and xenobiotics added to soil may negatively or positively alter soil microbial community structures and functioning.

Only during the last years, soil scientists started to realize that not only the quality and quantity of SOM affects the activity of soil biota, but vice versa that the composition of soil biota determines SOM composition. Indeed, more and more evidence is found that microbial materials are an important constituent of stable SOM. Early indications were provided by  $^{15}\text{N}$  solid-state NMR spectroscopy, demonstrating that in charcoal-free SOM, almost all of the organic N derives from peptides and peptide like compounds [1]. This questioned common views and concepts of the early days about SOM stabilization via abiotic re-condensation between N-components and aromatic lignin degradation products or as suggested by newer models via the Ferrous wheel mechanism [2]. Studying humification in the presence of  $^{15}\text{N}$  enriched nitrate and ammonium indicated further that aside from plant debris a considerable part of this peptide must derive from microbial residues [3].

However, a good understanding if and how microbial biodiversity and biome size accounts for the chemistry, stability and abundance of SOM is still lacking and a better collaboration between soil microbiologists and soil chemist is urgently needed. Therefore, in the present work, advanced analytical techniques and stable isotope labeling approaches allowing a better characterization of composition and origin of SOM will be presented and their potential to contribute to this open question will be discussed.

## **PROMESAS DE LA BIOLOGÍA SINTÉTICA PARA MANIPULAR BACTERIAS DE INTERÉS AGROPECUARIO: UN ENFOQUE EN TÉCNICAS DE CRISPR Y BAR-SEQ EN EL GÉNERO *Burkholderia***

Silvia T. Cardona (1,2)

(1) University of Manitoba, Department of Microbiology, Winnipeg, MB, Canada. (2) University of Manitoba, Medical Microbiology & Infection Disease, Winnipeg, MB, Canada.  
silvia.cardona@umanitoba.ca

La biología sintética comprende el diseño, síntesis e incorporación de DNA sintético en organismos vivos, a los efectos de otorgarles nuevas capacidades o capacidades mejoradas. Las nuevas técnicas de edición genómica aseguran que el ciclo de diseño construcción, prueba y aprendizaje (DBTL) se acelere, permitiéndonos resolver muchos problemas de índole biotecnológico. Por ejemplo, bacterias que hasta ahora han sido refractarias a la manipulación genética y que son de interés agropecuario, pueden ser ahora modificadas genéticamente.

Un grupo de bacterias que ha presentado dificultades para su edición genómica es el género *Burkholderia*. Estas bacterias Gram negativas de interés biotecnológico tienen genomas extensos y un metabolismo versátil. En nuestro laboratorio, usamos a *Burkholderia cenocepacia* como modelo para desarrollar nuevas técnicas de ingeniería genética y biología sintética que pueden ser adaptadas o otras cepas del mismo género.

Muchos de los sistemas de expresión que se usan en bacterias modelo como *Escherichia coli* no funcionan en *Burkholderia*. Usando genes reporteros y técnicas de biología sintética hemos identificado y modificado el sistema de expresión inducible por ramnosa y hemos ampliado el rango dinámico de expresión. El nuevo sistema, RhaB2+ permite mayores niveles de expresión con menores niveles de ramnosa a la vez que mantiene una fuerte represión en ausencia de ramnosa en varias especies de *Burkholderia*.

Para establecer conexiones entre genes y funciones es necesario crear mutantes y estudiar los fenotipos resultantes. En *Burkholderia*, los métodos de delección en base a recombinación homóloga son engorrosos debido a la falta de marcadores de contra selección. Como alternativa, hemos adaptado la tecnología de interferencia por CRISPR (CRISPRi). CRISPRi permite inhibir la expresión de uno o más genes de interés expresando sólo dos elementos genéticos: una endonucleasa inactiva o dCas9 y un ARN sintético o ARN guía diseñado para alinear cerca del codón de inicio de la traducción. Otros sistemas de mutagénesis en desarrollo en nuestro laboratorio son el de recombinación por "Lambda Red" y el sistema de transposición guiado por Cas endonucleasas. A nivel genómico, hemos avanzado en técnicas de transposición de alta densidad con código de barra de ADN (DNA barcodes), lo que nos permite identificar todos los genes involucrados en la supervivencia ante cualquier condición ambiental, simplemente secuenciando los códigos de barra con técnicas de secuenciación de última generación (Bar-seq).

Las herramientas genéticas desarrolladas por nuestro laboratorio están disponibles para la comunidad científica de *Burkholderia* a través del repositorio de plásmidos Addgene. Los pasos de desarrollo de los métodos descritos también están a disposición de otros investigadores que quieran usarlos como marco inicial para implementar técnicas similares en otras bacterias de interés biotecnológico.

## **CAN WE REDUCE COSTS OR EXPAND BENEFITS OF RHIZOBIA IN LEGUME CROPS?**

R. Ford Denison  
University of Minnesota, St. Paul, Minnesota, U.S.A.  
denis036@umn.edu

Net benefits of rhizobia to legume crops could be increased either by increasing benefits or by reducing costs. In comparing rhizobia strains, we have tended to neglect costs and also the potential for benefits beyond nitrogen. Plant growth with a single rhizobia strain is one measure of net benefits, but plants in the field always host multiple strains. Do different strains provide complementary benefits, such as nitrogen fixation early versus late in plant growth, or do strains interact in ways that reduce benefits? What about benefits other than nitrogen fixation, such as production of root-defending chemicals or plant-community benefits from hormonal manipulation of plant phenotypes?

Using gas-exchange to estimate the respiration cost of N<sup>2</sup> fixation, we have seen differences in efficiency between rhizobia strains and between legume species. More-beneficial inoculum strains rarely occupy more nodules than less-beneficial soil strains. However, existing mechanisms of host-imposed sanctions could perhaps be enhanced through plant breeding or biotechnology, in ways that would enrich soils with more-beneficial strains over years.

## USO DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (PGPB) PARA RESTAURAR SUELOS DEGRADADOS EN ZONAS ÁRIDAS

Luz E. de-Bashan

Grupo de Microbiología Ambiental, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, (CIBNOR),  
La Paz, B.C.S., Mexico, Bashan Institute of Science, Auburn, Alabama, USA  
luz@bashanfoundation.org

Los suelos de zonas áridas se ven continuamente degradados por las actividades humanas en un proceso llamado desertificación. La desertificación reduce las tierras cultivables, aumenta la erosión del suelo y el riesgo de inundaciones, reduce la producción agrícola y produce enfermedades respiratorias debido a la polución por el polvo.

La restauración de zonas desérticas degradadas es difícil y en muchos casos sólo marginalmente exitosa. Entre los principales problemas que se presentan en estas áreas están el que sistema de árboles nodriza que gobiernan la vegetación natural en el desierto se encuentra destruido y la capa superficial de suelo con sus microorganismos benéficos está erosionada por acción del viento y el agua, la materia orgánica es muy baja, la estructura del suelo está destruida, hay una limitada disponibilidad de nutrientes y el agua es escasa. Por estas razones, la sucesión natural y la revegetación en estas zonas áridas son muy lentas. Cualquier intento de reforestar el desierto con plantas nativas debe considerar primordialmente la restauración de la microflora benéfica asociada con estos árboles y arbustos, además de proporcionar una fuente adicional de materia orgánica. Entre las estrategias que hemos utilizado para encarar la desertificación están la de reforestar con plantas nativas y exóticas e inocular las plantas con microorganismos promotores de crecimiento vegetal.

Nuestros estudios han demostrado que al inocular el cactus endémico del desierto de Sonora, México *Pachycereus pringlei* con la PGPB *Azospirillum brasilense* hay un aumento en el crecimiento de la planta. En un experimento de campo en un camino de ripio altamente erosionado, tres especies diferentes de cactus fueron inoculadas con *A. brasilense*, y como resultado se obtuvo un porcentaje de sobrevivencia del 76%, en comparación con plantas control no inoculadas, donde menos del 2% de las plantas sobrevivieron después de 3.5 años. El resultado más significativo en este cultivo de cactus fue el control de la erosión del suelo en el área y la acumulación de suelo superficial nuevo.

Adicional al uso de *A. brasilense*, hemos aislado PGPB nativas del desierto, tanto de la superficie de raíces, como endófitas de cactus. Estas bacterias intemperizan las rocas sobre las cual crecen las plantas, liberando minerales esenciales y al mismo tiempo producen pequeñas cantidades de suelo.

A pesar de que se ha demostrado la existencia de hongos micorrízicos arbusculares (AM) en numerosas especies de árboles y cactus del desierto, la inoculación con estos microorganismos es todavía escasa. Es probable que los AM jueguen un papel similar en las plantas del desierto al que ejercen en cultivos agrícolas, porque las plantas dependen de estos hongos simbióticos para la adquisición de nutrientes, especialmente fósforo y en general, el transporte de minerales. Sin embargo, los datos científicos son aún escasos.

# Mesas Redondas



## APLICACIÓN DE BACTERIOCINAS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES EN PLANTAS

Sonia Fischer

Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, CONICET-INIAB, Río Cuarto, Argentina.

sfischer@exa.unrc.edu.ar

Uno de los grandes problemas a los que se enfrentan los productores agrícolas son las enfermedades bacterianas que perjudican a los cultivos; y el cambio climático, con periodos de extrema sequía, o de abundantes lluvias y granizos, ha contribuido a ello. Para combatir dichas enfermedades se aplican compuestos a base de cobre o antibióticos; ambos son tóxicos tanto para la salud humana como para el medio ambiente, y el uso reiterado de los mismos está generando una alta resistencia en bacterias patógenas. Por lo tanto, estos bactericidas están perdiendo efectividad, y en el corto o mediano plazo habrá que pensar en nuevos compuestos.

La búsqueda de alternativas al uso de pesticidas químicos para el control de enfermedades es clave para alcanzar una agricultura sostenible. Las bacteriocinas -consideradas la nueva generación de compuestos antimicrobianos- podrían ser empleadas como estrategia alternativa para el control de fitopatógenos.

*Pseudomonas fluorescens* SF4c es una cepa nativa aislada de la rizósfera de trigo cultivado en la provincia de Córdoba. Esta cepa sintetiza bacteriocinas tipo cola de fago (tailocinas), capaces de inhibir *in vitro* a cepas fitopatógenas de los géneros *Pseudomonas* y *Xanthomonas*. Ensayos llevados a cabo en invernadero han demostrado que la aplicación foliar de las bacteriocinas reduce la severidad e incidencia de la enfermedad de la mancha en tomate causado por *Xanthomonas vesicatoria*. Además, las bacteriocinas tienen un efecto protector sobre el fruto de tomate. El modo de acción de estas bacteriocinas fue analizado mediante microscopía de fuerza atómica. Estos estudios permitieron dilucidar que las tailocinas se adhieren y causan daños en la envoltura celular de las bacterias patógenas, lo que resulta en una pérdida del material citoplasmático, con la consecuente muerte del patógeno.

En *Pseudomonas aeruginosa* la regulación de tailocinas depende de PrtR (proteína represora) y PrtN (activadora). Sin embargo, en *Pseudomonas* asociadas a plantas la regulación de bacteriocinas es desconocido. En nuestro laboratorio se construyó un mutante de *P. fluorescens* SF4c en el gen *prtR*. La expresión y la producción de tailocinas fueron abolidas en dicho mutante. Por lo tanto, a diferencia de *P. aeruginosa*, PrtR es un regulador positivo en *P. fluorescens*. Recientemente se construyeron mutantes en cada una de las tailocinas (denominadas R1 y R2) de la cepa SF4c. La actividad antimicrobiana de cada uno de los mutantes fue analizada contra diferentes cepas de los géneros *Pseudomonas* y *Xanthomonas*. La tailocina R2 tiene un espectro de acción más amplio que R1. Ensayos en invernadero están siendo llevados a cabo para determinar la efectividad de tailocina R1 y R2 contra el fitopatógeno *X. vesicatoria* o si existe un efecto sinérgico de ambas tailocinas.

**“EYWA” - INTERCONECTANDO INTERACCIONES EN EL SUELO**

Mónica A. Lugo (1,2)\*, R. Emanuel Ontivero (1,2), Eugenia Menoyo (1,3), Lucía Risio (1,2,4),  
Hebe J. Iriarte (1,2), Esteban M. Crespo (1)

(1) MICODIF, Área Ecología-Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis (UNSL), San Luis, Argentina. (2) Instituto Multidisciplinario de Investigaciones Biológicas-CONICET-UNSL, San Luis, Argentina. (3) Instituto de Matemática Aplicada-CONICET-UNSL, San Luis, Argentina. (4) Departamento de producción vegetal, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias-UNSL Villa Mercedes, San Luis, Argentina.

\*lugo@unsl.edu.ar, monicalugo63@gmail.com

Actualmente el suelo es considerado un ecosistema complejo que alberga diversas comunidades de macro y microorganismos que se interrelacionan entre sí y con las raíces de las plantas. Su gran biodiversidad incluye bacterias y hongos relacionados directamente con el ciclado de los nutrientes, la captura de las emisiones de gases del efecto invernadero (EGI), el “secuestro” de carbono y la productividad de las comunidades vegetales que albergan. Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA, Glomeromycota) son componentes fundamentales de las comunidades fúngicas de los suelos en la mayoría de los ecosistemas terrestres, entre ellos los agroecosistemas. Estos simbioses mutualistas colonizan las raíces del 80% de las plantas terrestres; benefician a sus hospedantes aumentándoles la resistencia a factores de estrés abiótico (la sequía, los metales pesados y la salinidad) y bióticos (patógenos). Además, favorecen el crecimiento vegetal mejorando la provisión de nutrientes esenciales y poco móviles desde el suelo, mediante una red de hifas que no sólo localiza, captura y transporta estos elementos, sino que interconecta las diversas especies de hospedantes entre sí, redistribuyendo los nutrientes en la comunidad vegetal. Así, los HMA aumentan la fertilidad del suelo incrementando la productividad vegetal; también mejoran la agregación y disminuyen la erosión del suelo.

Las distintas prácticas agrícolas afectan la diversidad de HMA, influyendo en la productividad de los agroecosistemas. Los HMA cumplen roles claves en los ecosistemas edáficos, que les permiten brindar servicios ecosistémicos como proveedores de productividad vegetal, aumentar la tolerancia de los cultivos al estrés abióticos, disminuir el uso de fertilizantes químicos, aumentar la calidad del producto vegetal para la salud humana, bioacumular metales pesados, evitar la erosión, conservar la biodiversidad, secuestrar carbono, disminuir la emisión de óxido nitroso y aumentar la eficiencia en el uso del agua. En el marco del cambio global, las modificaciones tecnológicas que reducen los ingresos energéticos y EGI se denominan mitigación. Entre las estrategias que contribuyen con la mitigación se encuentran la reducción del uso de combustibles fósiles, la “captura” y “secuestro” del metano y del carbono en sistemas agrícolas y forestales, la disminución en la aplicación de fertilizantes químicos y el uso eficiente de los recursos hídricos. Los HMA, habitantes cosmopolitas del recurso/ecosistema no renovable suelo, se constituyen como microorganismos claves para la mitigación, agregando e interconectando factores bióticos y abióticos en el suelo. Eywa proviene del Corán y significa “promover refugio, seguridad, protección” y también es el nombre del árbol sagrado de los nativos de Pandora, que interconecta todo lo existente en el planeta y lo mantiene vivo formando redes como los hongos micorrícicos y sus interacciones fundamentales para la mitigación!

**LA INTERACCIÓN ENTRE *Bacillus subtilis* Y *Setophoma terrestris* COMO MODELO PARA ENTENDER LA EVOLUCIÓN DE LOS MECANISMOS DE ANTAGONISMO ENTRE MICROORGANISMOS**

Andrea G. Albarracín Orio

Laboratorio de Interacciones Microbianas – IRNASUS-CONICET, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Córdoba  
andrea.albarracin@gmail.com

Numerosas especies de bacterias y hongos coexisten e interaccionan en el ambiente manifestando comportamientos antagónicos o mutualísticos. Durante esas interacciones los microorganismos son capaces de desarrollar y/o desencadenar mecanismos celulares necesarios para acceder a nutrientes y generar protección contra agresiones externas permitiendo su adaptación a las condiciones ambientales cambiantes y los complejos estilos de vida en comunidad.

En nuestro laboratorio iniciamos la búsqueda de bacterias benéficas del suelo que presenten actividad contra hongos patógenos de cultivos de importancia económica para el país. Uno de los aislamientos más promisorios presentó una fuerte capacidad de inhibición del crecimiento del principal patógeno de cebolla, *Setophoma terrestris* (ST). Este aislamiento fue identificado mediante secuenciamiento del gen 16S rRNA y MALDI-TOF como *Bacillus subtilis* y mostró en las pruebas de antagonismo una capacidad diferencial de inhibición del desarrollo de diferentes cepas del patógeno, siendo altamente efectivo contra aislamientos de *S. terrestris* nativos. Determinamos que dicha cepa, denominada *B. subtilis* ALBA01, sufre una variación fenotípica hereditaria tras la interacción con el hongo en co-cultivo, fenómeno que se manifiesta por una mayor capacidad antagónica y la formación de biofilms robustos. Por análisis de metabolómica en base a espectrometría de masas observamos perfiles diferenciales en *B. subtilis* ALBA01 antes (pre-ST) y después (post-ST) de interactuar con el hongo, los que revelaron la ausencia paradójica de surfactina y plipastatina en las variantes post-ST. A pesar de la ausencia de estos clásicos lipopéptidos antimicrobianos, las variantes post-ST presentaron una mayor actividad antifúngica con respecto a pre-ST. Por otro lado, por análisis de metabolómica en base a cromatografía gaseosa detectamos un grupo de compuestos cetónicos como los principales metabolitos discriminantes presentes en mayor concentración en las variantes post-ST durante el proceso de interacción. Estas cetonas mostraron una fuerte actividad antifúngica *in vitro*, actividad que notablemente, se pierde con la adición de surfactina exógena. Finalmente, mediante genómica comparativa logramos determinar que mutaciones en el sistema de *quorum sensing* ComQXPA representan las bases genéticas de la conversión a variante post-ST.

En su conjunto, estos resultados indican que las mutaciones en ComQXPA determinan en las variantes post-ST un cambio metabólico con efectos pleiotrópicos que resulta en tres resultados principales: i) la capacidad de producir y retener niveles efectivos de cetonas antifúngicas al interactuar con el hongo, ii) la interrupción de la producción de surfactina, que de otro modo interferiría con la actividad antifúngica de las cetonas; iii) la promoción de la formación de biofilms robustos, otra característica importante para superar las interacciones biológicas en hábitats naturales como las raíces de una planta.

## MICROARRAY DATA PROVIDE NEW INSIGHTS INTO CATABOLIC CAPACITIES OF AN AROMATIC-DEGRADING ACTINOMYCETE STRAIN

Marcela Ferrero

YPF Tecnología S.A. Av. del Petróleo Argentino (RP10) S/N entre 129 y 143 (1923), Berisso,  
Buenos Aires, Argentina  
marcela.ferrero@ypftecnologia.com

There is great interest in identifying next-generation information that allows predicting the diversity of pollutants that each community and the microorganisms conforming it, can degrade and the catabolic genes implicated. The analysis of catabolic capacities of microbial communities or single cultures begins by assessing gene contents, which are currently often achieved using genomic or metagenomic data. The collection of genes in a catabolome microarray can be exploited to indicate whether they are functionally connected with certain degradative phenotypes, without previous knowledge of genome data.

A microarray system from curated key aromatic catabolic gene families and key alkane degradation genes was designed to provide new insights into the degradation capacities of *Amycolatopsis tucumanensis* DSM 45259.

Based on the microarray and experimental data, *A. tucumanensis* DSM 45259 has the ability to use alkanes, phthalate, phenol and benzoate as sole carbon sources, as well aromatic hydrocarbons as phenanthrene, demonstrated previously by proteomics studies. Furthermore, cultivation and mass spectrometry evidences demonstrated that the catabolome array can aid in the understanding of degrading capacities of DSM 45259.

In conclusion, we report here new insights into the catabolic abilities of the first member of the *Amycolatopsis* genus and identify a variety of genomic signatures which seems to be uncommon within actinomycetes. This work also contributed to deepening into the degradation capacities of actinomycetes, in order to clarify the way for more efficient engineering of bacteria in the direction of more effective bioremediation applications.

## ESTRATEGIAS MICROBIOLÓGICAS PARA UNA AGRICULTURA SUSTENTABLE EN TIEMPOS DE CAMBIO CLIMÁTICO

Seeger, M (1)\*, Vega-Celedón, P (1), Velásquez, A (1), Valenzuela, M (1), Méndez, V (1), Bravo, G (1), Vásconez, N (1), Álvarez, I (1), Hernández, L (1), Vergara, A (1), Lobaina, E., Carvajal, M (1), Besoain, X (2)

(1) Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Biotecnología Daniel Alkalay Lowitt, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. (2) Escuela de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Quillota, Chile.

\*michael.seeger@usm.cl

El cambio climático ha intensificado las sequías, las inundaciones y las heladas, afectando la productividad y la distribución de diversos cultivos agrícolas y favoreciendo la emergencia de diversos fitopatógenos. La utilización de estrategias microbiológicas contribuye a enfrentar el cambio climático, reducir el impacto negativo de los agroquímicos y avanzar hacia una agricultura más sustentable. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) y los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) establecen asociaciones benéficas con las plantas, y poseen la capacidad de mejorar la calidad de los suelos, aumentar el rendimiento y calidad de los cultivos, y dar resistencia a múltiples tipos de estrés abiótico y fitopatógenos.

Los objetivos de este estudio son la caracterización y aplicación de microorganismos para potenciar el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios por cultivos agrícolas, y la caracterización de bacterias fitopatógenas y su biocontrol. Se aislaron bacterias desde diversos hábitats como la Cordillera de los Andes y la Patagonia de Chile. Se seleccionaron cepas bacterianas por sus capacidades promotoras del crecimiento vegetal y capacidad de biocontrol de bacterias y hongos fitopatógenos. Un consorcio de *Pseudomonas* spp. favoreció el crecimiento y disminuyó el efecto del estrés por frío en cultivos agrícolas. Se estudió el efecto del HMA *Funneliformis mosseae* sobre la vid. Plantas de *Vitis vinifera* micorrizadas presentaron un aumento en el crecimiento aéreo y en terpenos volátiles específicos. Por otra parte, se realizó una caracterización genética, genómica y de virulencia de cepas aisladas de diferentes regiones de Chile de las bacterias fitopatógenas del tomate *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) y *Ralstonia solanacearum* (*Rs*). Se estudió el biocontrol de fitopatógenos mediante bacterias y cepas de *Trichoderma* spp. en plantas de tomate.

La caracterización de los microorganismos y sus aplicaciones agrícolas permiten el tránsito hacia una agricultura sustentable en tiempos de cambio climático.

## AN INNOVATIVE TOP-DOWN ENRICHMENT STRATEGY TO GUIDE THE DESIGN OF MINIMAL AND VERSATILE LIGNOCELLULOLYTIC MICROBIAL CONSORTIA

Diego J. Jiménez

Microbiomes and Bioenergy Research Group, Department of Biological Sciences, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia  
djimenez1909@gmail.com

The engineering of complex communities can be a successful path to understand the ecology of microbial systems and improve biotechnological processes. However, the vast complexity of natural microbial communities can be a challenge to in-depth understand interactions and metabolic processes. Recently, we developed a top-down enrichment strategy to select a minimal and versatile lignocellulolytic bacterial consortium (MELMC) using a sequential combination of dilution-to-stimulation and dilution-to-extinction approaches. The consortium was retrieved from Andean Forest soil and selected through incubation in liquid medium with a mixture of three types of agricultural plant residues. We demonstrated that mainly two selectively enriched bacterial species (*Pseudomonas* sp. and *Paenibacillus* sp.) are required to drive the effective degradation of plant polymers. Differences in the composition of bacterial communities between biological replicates indicated that selection, sampling, and/or priority effects could shape the consortium structure. The MELMC can degrade up to ~13% of corn stover, consuming mostly its (hemi)cellulosic fraction. Tests with chromogenic substrates showed that the MELMC secretes an array of endoenzymes able to degrade xylan, arabinoxylan, carboxymethyl cellulose, and wheat straw. Additionally, the metagenomic profile inferred from the phylogenetic composition along with an analysis of carbohydrate-active enzymes of 20 bacterial genomes support the potential of the MELMC to deconstruct plant polysaccharides. This capacity was mainly attributed to the presence of *Paenibacillus* sp. Our selective strategies can guide the design of an effective synthetic microbial consortium that could improve some biotechnological applications and expand our ecological understanding of natural microbial systems.

## EXPLORACIÓN DE NUEVOS MECANISMOS DE RESISTENCIA A CONDICIONES EXTREMAS EN MICROORGANISMOS Y SUS APLICACIONES EN BIOTECNOLOGÍA

José Eduardo González-Pastor

Department of Molecular Evolution. Centro de Astrobiología (CSIC-INTA), Madrid, España.  
gonzalezpje@cab.inta-csic.es

Los microorganismos que habitan en ambientes extremos han desarrollado numerosas estrategias moleculares que permiten su adaptación a condiciones fisicoquímicas muy hostiles. Concretamente, en nuestro grupo de investigación estamos interesados en estudiar los mecanismos de adaptación en ambientes ácidos (Rio Tinto), hipersalinos (salares de Atacama y del altiplano andino y salinas costeras) y fríos. Mediante el cribado funcional de bibliotecas metagenómicas de esos ambientes extremos hemos aislado genes que confieren a *Escherichia coli* una mayor resistencia a pH ácido, níquel, arsénico, cloruro sódico, perclorato, frío y radiación UV. Algunos de los genes descubiertos habían sido previamente descritos, aunque no siempre implicados en resistencia a condiciones extremas, y otros codifican proteínas hipotéticas de función desconocida. Por otra parte, mediante experimentos de transcriptómica con microorganismos aislados y comunidades microbianas, hemos investigado la respuesta global a determinadas condiciones extremas. Además, se ha confirmado que algunos de los genes identificados confieren también resistencia a otros microorganismos y plantas, lo que permite explorar su potencial en biotecnología y en biología espacial.

## FACTORES AMBIENTALES DETRÁS DE LA DISTRIBUCIÓN DE *Vibrio cholerae* Y COMUNIDADES BACTERIANAS EN EL ESTUARIO DEL RÍO NEGRO

Germán A. Kopprio (1)\*, Rubén J. Lara (2)

(1) Leibniz Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries, Berlín, Alemania

(2) Instituto Argentino de Oceanografía, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Bahía Blanca, Argentina

\*kopprio@igb-berlin.de

Bacterias del género *Vibrio* se encuentran frecuentemente asociadas a ambientes estuarinos y *Vibrio cholerae* con el gen *toxR* ha sido reportado previamente en el estuario del río Negro. Esta especie ha sido relacionada con el impacto de la descarga cloacal y salinidades intermedias en un estudio anterior. Los objetivos de este trabajo son: 1) determinar si el gen para la subunidad A de la toxina del colera (*ctxA*) se encuentra presente en la boca del estuario del río Negro y 2) estudiar la abundancia de *Vibrio* spp en comparación con otras comunidades bacterianas y su relación con parámetros ambientales. Los genes *ctxA* y proteína de membrana externa W (*ompW*) de *V. cholerae* se estudiaron mediante técnicas de qPCR, mientras que las comunidades bacterianas mediante la diversidad bacteriana basada en la región hipervariable V3-V4 del gen 16S. El gen *ctxA* se detectó solamente en muestras de ADN ambiental derivadas de los sedimentos. Por otro lado, el gen *ompW* se registró con una mayor frecuencia tanto en el agua como en los sedimentos, indistintamente si la muestra provino de cultivos o del ambiente. Unidades taxonómicas operativas (OTUs) del género *Vibrio* fueron observadas con mayor abundancia relativa en los sedimentos. Las muestras de mayor diversidad se registraron en los sedimentos y en el material particulado en suspensión de origen marino. El género *Marivivens* fue un buen indicador de la descarga de nutrientes del humedal. Este es el primer reporte de *ctxA* a latitudes más altas que 39°S en aguas del Atlántico Sudoccidental. *Vibrio cholerae* toxigénico se encontró probablemente en un estado no cultivable, como ocurre también en regiones endémicas. Los sedimentos estuarinos actuarían como un reservorio ambiental de *Vibrio* spp y particularmente de *Vibrio cholerae* con factores patogénicos. Bacterias del género *Vibrio* se encontrarían favorecidas bajo escenarios de cambio climático y tormentas costeras más frecuentes podrían resuspender esta bacteria de los sedimentos e incluso transportarlas aguas arriba. La materia orgánica de los sedimentos sería también resuspendida que conjuntamente con aguas de mayor salinidad crearían condiciones favorables para el crecimiento de *Vibrio* spp. Este escenario significaría un riesgo potencial para poblaciones humanas de la región.

## IMPACTO DE METALES PESADOS Y METALOIDES SOBRE MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS

Eliana Bianucci\*, Ana Furlan María Soledad Anzuay, Liliana Ludueña, Tania Taurian, Juan Manuel Peralta, Natalia Rodríguez, Araceli Isaia, Stella Castro

Instituto de Investigaciones Agrobiotecnológicas (INIAB-CONICET)- FCEFQyN - UNRC,  
Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

\*ebianucci@exa.unrc.edu.ar

Los metales pesados y metaloides están ampliamente distribuidos en la naturaleza y su concentración varía ampliamente de una zona a otra. El cadmio (Cd) es un elemento tóxico cuyo principal aporte a los suelos agrícolas es de origen antropogénico, mediante la aplicación de fertilizantes fosfatados. Por otro lado, el arsénico (As) es un metaloide que se encuentra naturalmente en las aguas subterráneas de Argentina, concentrándose principalmente en la provincia de Córdoba. En esta zona, el nivel freático puede fácilmente alcanzar la zona rizosférica impactando directamente sobre los microorganismos del suelo, tales como las bacterias que generan un efecto benéfico en plantas, denominadas bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB, por sus siglas en inglés). La toxicidad del Cd y el As está asociada a la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) que perturban el estado redox celular y, a alteraciones a nivel del sistema de defensa antioxidante, relacionado principalmente con el metabolismo del glutatión (GSH). Nuestros estudios abarcan ensayos de tolerancia y respuesta oxidativa y antioxidante en PGPBs (simbióticas y endófitas) y en su interacción con leguminosas de alto interés económico. Así, se pudo demostrar que en los rizobios (simbiontes de maní y soja), la respuesta a la exposición de metal(oid)es resultó ser específica de cepa y que, aun perteneciendo al mismo género bacteriano, hay variaciones específicas que influyen en el nivel de tolerancia estando el GSH, principalmente involucrado en el proceso de detoxificación. El estudio del efecto del As sobre las bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP), seleccionadas por la analogía química existente entre el metaloide y el fosfato, permitió demostrar que a pesar de que el As ocasionó alteraciones oxidativas en estas bacterias, la mayoría de los mecanismos de promoción de crecimiento vegetal no se vieron afectados. Por otra parte, en los ensayos de interacción con las leguminosas se determinó que los rizobios modulan la translocación de los elementos en las plantas, no estando la tolerancia de las cepas relacionada con dicha capacidad. Adicionalmente, la inoculación combinada con BSP mejoró el crecimiento y la incorporación de nutrientes tales como nitrógeno y fosforo en plantas afectadas por As, actuando como microorganismos "helper". Estos hallazgos proporcionan el conocimiento propicio para la formulación de un bioinoculante específico para cada cultivo, mediante la selección de la/s PGPB/s adecuada/s, que en interacción con la planta permita/n contrarrestar los efectos adversos del Cd y el As como herramienta sustentable.

**BIOSENSORES: NUEVAS TECNOLOGÍAS EN AYUDA DE LA AGRICULTURA DE PRECISIÓN**

Rossana E. Madrid\*

Laboratorio de Medios e Interfases. FACET-UNT / INSIBIO-CONICET. Rosario, Argentina  
rmadrid@herrera.unt.edu.ar

Los biosensores son dispositivos útiles e interesantes que realizan una amplia gama de determinaciones biomédicas, ambientales o alimentarias. Estos dispositivos surgen en los años sesenta del siglo pasado, y desde ese momento tuvieron una gran evolución tanto en las aplicaciones como en las tecnologías involucradas. Los biosensores combinan un elemento de reconocimiento molecular, el biorreceptor, con una unidad de conversión de señal, el transductor físico.

Durante los últimos años, se pensó en los biosensores hacia nuevos campos de aplicación. Los recientes avances en biosensores electroquímicos, que incorporan nanotecnología, y su integración en dispositivos de análisis compactos, pueden contribuir a proteger la salud humana y animal, facilitar el monitoreo ambiental y aportar soluciones a la agricultura de precisión. Actualmente, se utilizan varios tipos de biosensores que incluyen biosensores basados en enzimas, inmunosensores, biosensores basados en células o tejidos, biosensores de ácidos nucleicos y biosensores térmicos y piezoeléctricos.

Las aplicaciones de estos dispositivos son muy diversas y vastas en el área de agricultura como ser, evaluación de las condiciones de humedad y pH del suelo, monitoreo de herbicidas, pesticidas, insecticidas, patógenos, fertilizantes y el crecimiento de cultivos, con el objetivo de eliminar las aplicaciones de productos fitosanitarios, reducir la pérdida de nutrientes y mejorar el rendimiento de los cultivos mediante una buena gestión de los mismos. Existen desarrollos de biosensores "vestibles" para plantas, que son otros enfoques innovadores para el análisis *in-situ* de residuos de plaguicidas u otros compuestos.

Todas estas innovaciones en la tecnología de nanobiosensores ha logrado gradualmente una evaluación masiva para aportar soluciones a varios problemas de las prácticas agrícolas convencionales y revolucionar el campo de la agricultura de precisión. Es necesario orientar aún la investigación hacia la mejora de la vida útil de un biosensor para aumentar la aceptabilidad entre los usuarios finales. La mejora de las características básicas de los biosensores conducirá a una aplicación generalizada en las principales áreas desafiantes de la agricultura.

## DISEÑO RACIONAL DE BIOSENSORES BACTERIANOS DE METALES TÓXICOS. HACIA LA GENERACIÓN DE UN PANEL DE BIO-DETECCIÓN DE ESTOS CONTAMINANTES, ECONÓMICO Y SIMPLE DE UTILIZAR

Susana K. Checa\*

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR), CONICET-UNR, Rosario, Argentina  
checa@ibr-conicet.gov.ar

La contaminación creciente del ambiente con metales pesados como mercurio (Hg), plomo (Pb) o cadmio (Cd) es un problema mundial, difícil de revertir. Como no se pueden degradar, estos contaminantes persisten en el ambiente y se acumulan en los tejidos causando daños irreversibles sobre la salud y la biota. Existen métodos analíticos muy precisos, pero también costosos, para detectar y cuantificar la cantidad total de estos metales presentes en la muestra, aunque no indican su biodisponibilidad.

En nuestro laboratorio desarrollamos biosensores bacterianos, microorganismos modificados genéticamente para acoplar la detección de metales a la producción de una señal fácilmente cuantificable. Estas herramientas económicas y simples de utilizar, emergen como una alternativa a los métodos analíticos de uso actual, ya que son económicas y simples de utilizar, pero sobre todo porque reportan exclusivamente la fracción biodisponible de estos contaminantes. Por esto, son más adecuadas para determinar el riesgo real o potencial sobre la salud y el ambiente. Sin embargo, por las características intrínsecas del detector biológico o el diseño de la plataforma bio-detectora, estas herramientas suelen tener limitaciones de sensibilidad y/o especificidad. Usando cepas de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* como chasis bacterianos y una plataforma de bio-detección modular optimizada, en nuestro laboratorio hemos generado biosensores bacterianos de metales basados en la vía regulatoria controlada por el metalo-regulador GolS de *S. entérica*. Recientemente, aplicando una estrategia de mutagénesis racional logramos modificar la especificidad de reconocimiento de GolS que naturalmente detecta iones de oro (Au) y obtener biosensores inespecíficos y un biosensor específico para reportar contaminación del agua por Hg con excelente sensibilidad.

Desarrollamos además un protocolo de medición simple y económico adecuado para realizar determinaciones a campo o en laboratorios de baja complejidad. Utilizando una estrategia similar, actualmente estamos avanzando en la obtención de biosensores similares que nos permitirán reportar Pb y Cd biodisponibles. Discutiremos en particular estos últimos avances y nuestras perspectivas futuras hacia el objetivo final de lograr obtener un panel completo de biosensores específicos aplicables a monitoreo ambiental de estos contaminantes.

**DISEÑO DE BIOSENSORES Y BIOENSAYOS CON DETECCIÓN ELECTROQUÍMICA.  
UTILIZACIÓN DEL PRINCIPIO DE LA CELDA DE COMBUSTIBLE COMO UN TRANSDUCTOR  
DE BAJO COSTO, PEQUEÑO Y DESCARTABLE**

Natalia Sacco, Eduardo Cortón\*

Departamento de Química Biológica e Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, CONICET y UBA.

\*eduardo@qb.fcen.uba.ar

Los biosensores pueden ser considerados como sistemas de tipo analítico instrumentales, derivados de los bioensayos, que han surgido mucho antes y que son relativamente más sencillos (en general no dependen del uso de electrónica digital o computadoras, por ejemplo). Las celdas de combustible son sistemas electroquímicos donde a partir de al menos dos reacciones redox simultáneas se puede producir energía eléctrica. Los primeros estudios en estos sistemas fueron hace casi dos siglos, con sistemas parecidos a las actuales celdas de combustible de hidrógeno (HFC), donde estos dos gases reaccionan formando agua, y liberando energía, que es colectada por electrodos en forma de energía eléctrica.

Estos sistemas de HFC no tuvieron usos relevantes y no llegaron al mercado, hasta que fueron utilizados con éxito por misiones espaciales de la NASA, donde fueron de gran utilidad para producir electricidad para diferentes necesidades, y como subproducto agua de gran utilidad para el consumo de los astronautas; dado su uso doble, y que dependen básicamente del uso de gases comprimidos, su relación peso/energía fue muy favorable al compararla con las baterías de uso habitual en esa época. Estos sistemas electroquímicos utilizan hidrógeno como combustible y oxígeno como oxidante, y sus productos son energía eléctrica, calor y agua.

Pero es posible reemplazar el hidrógeno gaseoso utilizado por las celdas de combustible de hidrógeno por otros elementos. Trabajos precursores hace más de 100 años demostraron que el metabolismo microbiano puede ser útil para construir sistemas denominados celdas de combustible microbianas (MFCs), donde en el compartimento anódico la oxidación de materia orgánica por los microorganismos (muchas veces denominados como "electrogénicos) produce protones y electrones, mientras en el compartimento catódico el oxígeno se oxida a agua; ambos procesos al relacionarse mediante un circuito externo generan una corriente eléctrica. La corriente, potencial y potencia producida depende generalmente del metabolismo microbiano en el ánodo, generalmente ocasionado por microorganismos creciendo como biofilm sobre este.

Por ello, se han desarrollado una cantidad de biosensores microbianos basados en el principio de las MFCs. Las principales aplicaciones que se ha publicado están relacionadas con sistemas para monitorear la calidad del agua, como ser la demanda bioquímica de oxígeno (BOD) y toxicidad. En estos sistemas, los parámetros eléctricos de las MFC aumentan (BOD) o disminuyen (toxicidad), debido al efecto en el metabolismo microbiano de un aumento de fuentes de carbono o de elementos tóxicos en las muestras. Otras aplicaciones relacionadas también han sido desarrolladas, como la cuantificación de microorganismos totales viables, sistemas para la búsqueda de vida extraterrestre o de análisis de sustratos únicos, entre otros.

## RED DE CONTROL DE CALIDAD DE INOCULANTES: ESTADO ACTUAL Y NUEVOS DESAFÍOS

Silvia Toresani (1)\*, Olga Correa (2), Luciana Di Salvo (2,3)

(1) Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Agrarias. Cátedra de Microbiología Agrícola. Cátedra Libre Agroecología. Zavalla, Santa Fe, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Biología Aplicada y Alimentos. Cátedra de Microbiología Agrícola. CABA, Argentina. (3) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

\*storesan@gmail.com

Frente a la intensificación de la producción agrícola y la numerosa oferta de inoculantes microbianos crecía la necesidad de atender a la calidad y efectividad de estos. Desde el año 2005, ante la necesidad de contar con un espacio de trabajo, discusión y consenso, un grupo de profesionales, del sector público y privado, involucrados en el desarrollo, producción, investigación y servicios de control de calidad de inoculantes, integramos la Red de Control de Calidad de Inoculantes (REDCAI), institucionalmente enmarcada en la Asociación Argentina de Microbiología (AAM). Implementamos un sistema INTERLAB, constituidos por una red de laboratorios con el fin de validar procedimientos estandarizados y monitorear el proceso de mejora mediante la evaluación estadística de los resultados.

En 2013, gracias al trabajo de más de 30 laboratorios constituidos en cuatro grupos de trabajo (Rizobios, *Azospirillum*, *Pseudomonas* y Micorrizas) que analizaron muestras de inoculante según protocolos validados y consensuados, se publicó el primer “*Manual de procedimientos microbiológicos para la evaluación de inoculantes*” (ISBN 978-987-26716-4-8). El mismo consta de 8 capítulos y un Anexo de legislación. Los protocolos validados por REDCAI se usan como referencia en instituciones públicas y privadas de investigación, docencia y servicio a terceros. En ese mismo año, y ante la presencia en el mercado de productos comerciales a base de otros microorganismos, se sumaron los grupos de trabajo para especies del género *Bacillus*, Bacterias lácticas y Hongos no micorrícicos (HNM); como así también dos grupos transversales: Validación Agronómica y Biología Molecular.

Actualmente, el grupo de Validación Agronómica finalizó el protocolo de “*Condiciones mínimas para la evaluación de inoculantes de soja en ensayos de campo*”. El grupo *Azospirillum* publicó en la Revista Argentina de Microbiología el trabajo de estandarización de la técnica de la microgota (<https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.05.002>) y se encuentra trabajando en ajustes al protocolo de recuperación en semilla y ensayos a campo. El grupo rizobios está analizando, la modificatoria a la prueba de Burton y a la validación de la técnica de la microgota y el protocolo para las semillas preinoculadas. El grupo HNM que ha trabajado con *Trichoderma*, y el grupo *Bacillus* lograron sus respectivos protocolos consenso y están trabajando en rondas de evaluación de diferentes muestras. El grupo *Pseudomonas* retomó el protocolo publicado e iniciaron nuevas rondas, y se abocaron a la discusión sobre la factibilidad del uso de la técnica de la microgota. Bacterias lácticas avanzó en la validación interlab del protocolo consensuado, ajustaron los pasos de dos procedimientos analíticos referenciados y potencialmente aplicables al recuento y probaron la técnica de la microgota.

En 2018-2019, en los Talleres semestrales, iniciamos la discusión sobre la pertinencia de la REDCAI en el control de calidad de bioinsumos de uso agropecuario, diferentes a los inoculantes comerciales tradicionales. Hoy se encuentran en el mercado una gran cantidad de productos registrados para uso en producción orgánica (Resolución N°374 de Producción Orgánica de SENASA), usados también en producción agroecológica, lo que presenta un nuevo desafío para nuestro trabajo en la REDCAI, dada la controversia generada acerca de la amplia variedad de estos y la falta de información científica al respecto.

## CONTROL BIOLÓGICO CON LEVADURAS AUTÓCTONAS PARA ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE PERAS: EVALUACIÓN A NIVEL COMERCIAL

Marcela Sangorrín

Grupo Biodiversidad y Biotecnología de Levaduras (PROBIEN, CONICET-Universidad Nacional del Comahue). Buenos Aires 1400, Neuquén. Tel: 299-4490300 int. 681  
marcela.sangorrin@probien.gob.ar

El hecho de que la demanda de la fruta se realice durante todo el año y que la producción se concentre en determinados períodos, obliga a conservar en frío la misma para regular la oferta a nivel mundial. Durante este período la fruta es susceptible a diferentes enfermedades principalmente fúngicas que se desarrollan invadiendo los tejidos y causando podredumbres. Tradicionalmente, el uso de fungicidas sintéticos ha sido la primera medida en el control de estas enfermedades.

El número de regulaciones técnicas y estándares de calidad se está incrementando en el mundo, haciendo cada vez más hincapié en el cuidado del medio ambiente y la salud. En este contexto, el Control Biológico resulta una de las alternativas más prometedoras para la sustitución de los fungicidas sintéticos. Asimismo, los ambientes donde se conservan los frutos en postcosecha presentan características favorables para la aplicación práctica de estos métodos donde se deben aplicar biocontroladores.

A pesar que durante los últimos años la investigación en materia de desarrollo de biofungicidas ha tenido avances, aún hay muchos retos, siendo uno de los principales desafíos el aumentar la eficacia y consistencia de estos biofungicidas en condiciones comerciales de aplicación. Otro desafío es tecnificar los métodos de producción masiva y la formulación para mejorar la estabilidad de los agentes microbianos en condiciones de almacenamiento para facilitar su aplicación. Para alcanzar estos desafíos nosotros hemos empleado para desarrollar biomasa de levaduras sustratos que poseen escaso valor agregado como el suero de queso, melaza de caña y bagazo de frutas. Por tratarse de subproductos o desechos industriales genera una revalorización de los mismos, además de solucionar parcialmente, la disposición final de materia orgánica residual.

En los primeros años de aplicación en línea de empaque de peras, se ajustaron las cantidades de levaduras aplicadas, la fecha de tratamiento y la combinación con diferentes aditivos. Hemos optimizado la producción de biomasa de *Vishniacozyma victoriae* NPCC 1263 por Diseño Estadístico Experimental en melaza de caña de azúcar, suero de queso y residuo de manzana a nivel de reactor Batch de 20 L. Con esta biomasa fresca y liofilizada hemos realizado en ensayos a escala semicomercial en varias temporadas obteniendo resultados muy alentadores, con un 60-80% de reducción en la incidencia de la enfermedad por diferentes fitopatógenos, en 120-170 días en cámara fría, en embalaje y condiciones comerciales conservación de peras orgánicas.

El empleo de esta levadura fue patentado por el CONICET y la UNC (INPI 20120101053). Debido a que la levadura fue seleccionada a partir del mismo hábitat en que deben actuar y frente a los patógenos locales a controlar, que fue evaluada durante 10 años en las condiciones comerciales de empleo, hoy se dispone de un potencial producto nacional con alta efectividad y compatible con la formulación industrial.

## EL BIOINSUMO HOWLER: UN DESARROLLO BIOTECNOLÓGICO ARGENTINO DISPONIBLE PARA LA AGRICULTURA GLOBAL

Nadia Regina Chalfoun (1)\*

(1) Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA)-CONICET-Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Av. William Cross 3150, Las Talitas, Tucumán, Argentina.

\*nadiarchal@yahoo.com.ar

Howler es un producto biotecnológico innovador de origen argentino que surge a partir de una colaboración público-privada y está próximo a su comercialización global. Se trata de un bioinsumo agrícola destinado al manejo fitosanitario en diversos cultivos cuyo nombre científico es PSP1 (*Plant Stimulation and Protection*). La acción de Howler se basa en la inducción de la defensa vegetal y está formulado principalmente con proteínas fúngicas extracelulares de *Acremonium strictum*.

El desarrollo de este bioinsumo abarcó dos grandes etapas, una de investigación aplicada en el ámbito científico académico (INSIBIO, UNT-CONICET; 1997-2012) que culminó con la protección intelectual y la transferencia de los conocimientos a la empresa nacional ANNUIT S.A., especialista en productos biológicos para la producción agrícola. A partir de 2012, se inició la segunda etapa de desarrollo de la tecnología (ITANOA, EEAOC-CONICET; años 2012-2019) en colaboración con ANNUIT S.A. que adquirió los derechos de explotación exclusiva de la patente. Esta etapa finalizó con el registro del producto en SENASA (año 2018) y su comercialización en el mercado nacional (año 2019). Durante este período se logró la obtención de un prototipo comercial con efectividad comprobada en patosistemas optimizados bajo condiciones controladas en soja y caña de azúcar y se validó su efecto en condiciones de campo en cultivos extensivos (soja, trigo y cebada) mediante una red de 100 ensayos realizados durante sucesivas campañas en diferentes regiones agroecológicas del país.

La competitividad y la protección de esta tecnología se sustentan principalmente en una estrategia de patentamiento internacional del principio activo del bioinsumo, la proteasa fúngica AsES, protegida hasta la actualidad en 19 países, el registro del bioinsumo en SENASA y su certificación para la producción orgánica en Argentina. Estos hitos, alcanzados mediante una estrecha alianza con la empresa ANNUIT S.A., sentaron las bases para un acuerdo comercial con una empresa con plataforma de marketing internacional (Summit-Agro S.A., miembro de la "Sumitomo Corporation"), que permitirá un rápido posicionamiento de Howler en el mercado global. Entre los años 2020-2021 se han realizado ensayos en más de 20 cultivos en 30 países diferentes, principalmente en Asia y Europa.

La generación de esta tecnología es un claro ejemplo de transferencia exitosa al sector privado, la cual alcanzó un desarrollo innovador en la industria nacional, con una proyección de comercialización a escala mundial. La producción de Howler, además de la implicancia económica que significa para nuestro país a través de la generación de nuevos puestos de trabajo, marca un cambio de paradigma en la producción agrícola con el principal objetivo de mejorar la productividad de los cultivos en forma sustentable mediante la reducción del uso de agroquímicos de síntesis.

## DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE FORMULACIONES DE *Bacillus subtilis* Y/O *Bacillus amyloliquefaciens* PARA EL BIOCONTROL DE ENFERMEDADES CAUSADAS POR FITOPATÓGENOS FÚNGICOS Y BACTERIANOS

Ricardo Puche (1,2), Aldana Correa (1,2), Renzo Díaz (1), Vanesa Basso (1), Daniela Medeot (1),  
Edgardo Jofré (1,2)\*

(1) Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud (INBIAS), CONICET-UNRC, Río Cuarto, Argentina. (2) Departamento de Ciencias Naturales, FCEFQyN, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina

\*ejofre@exa.unrc.edu.ar

*Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens* producen una vasta diversidad de metabolitos de interés para la salud vegetal, animal y humana. Entre los más destacados se encuentran los lipopéptidos cíclicos (LPC) que comprenden a las familias de surfactinas (surfactantes, antivirales), iturinas (fungicidas), y fengicinas (fungicidas, bactericidas). Estas moléculas poseen propiedades que las hacen interesantes desde el punto de vista biotecnológico como la estabilidad a elevadas temperaturas, la resistencia a proteasas, y la baja o nula toxicidad.

Nuestro grupo se ha enfocado en el estudio de los LPC producidos por cepas autóctonas de *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens*. Mediante HPLC y LC/ESI-MS/MS hemos identificado los LPC producidos por aislamientos autóctonos correspondientes a cuatro cepas de *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens*. En conjunto con una empresa nacional se desarrollaron formulaciones a base de estas cepas cuya efectividad para el control de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos ha sido evaluada en ensayos a campo. En *B. amyloliquefaciens* MEP<sub>218</sub>, mediante cambios en las fuentes de C y N y relación C:N hemos incrementado la producción de LPC y también observamos la producción de isoformas de fengicinas C-16 y C-17 con actividad antibacteriana contra *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria* (*Xav*), el agente causal de la mancha bacteriana del tomate, y contra *P. aeruginosa* PA01 (*Pa*), un patógeno oportunista de creciente relevancia clínica. La aplicación de un formulado a base de la cepa MEP<sub>218</sub> o de sus LPC disminuyó la incidencia y severidad de la mancha bacteriana en tomate. Asimismo, la aplicación de LPC de MEP<sub>218</sub> inhibió la formación de biofilm por *Xav* tanto en superficies bióticas como abióticas. Imágenes obtenidas mediante AFM revelaron alteraciones dramáticas en la topografía de la superficie bacteriana de *Xav* y *Pa* en respuesta a la exposición a las fengicinas C-16 y C-17 producidas por MEP<sub>218</sub>. La viabilidad de fibroblastos de pulmón humano MRC-5 no fue afectada por el tratamiento con estas fengicinas, indicando la ausencia de efectos citotóxicos en células humanas.

La aplicación de formulaciones de la cepa MEP<sub>218</sub> o de sus LPC resultó en una disminución de la incidencia y severidad de enfermedades causadas por hongos causantes de la podredumbre en frutos cítricos postcosecha. Recientemente hemos abordado los estudios para el desarrollo de un curasemilla biológico a base de las cepas de *Bacillus* para el control del Damping off. Para ello hemos identificado qué familia de LPC es la más efectiva para el control de cada uno de los hongos y oomicetos que conforman el complejo del Damping off.

La secuenciación y posterior análisis del genoma de *B. amyloliquefaciens* MEP<sub>218</sub> permitió la detección de un *cluster* de síntesis de una bacteriocina cíclica y de genes homólogos a enzimas de interés biotecnológico o CUEs ("Commercially Useful Enzymes"), entre las que se destacan las fitasas para la movilización de fósforo fítico, celulasas,  $\beta$  1-4 xilosidasas,  $\beta$  mananasas, y  $\alpha$  amilasas. Actualmente y teniendo como objetivo reemplazar los antibióticos destinados a la promoción del crecimiento en pollos parrilleros por probióticos a base de *B. subtilis* o *B. amyloliquefaciens*, hemos iniciado estudios tendientes a determinar los efectos de la administración de las cepas de *Bacillus* sobre los parámetros productivos y los asociados a la salud intestinal como así también sobre el microbioma intestinal en pollos parrilleros.

En base a nuestros resultados podemos concluir que formulaciones a base de las cepas autóctonas de *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* son efectivas para el control de enfermedades bacterianas, como la mancha bacteriana del tomate, y fúngicas como las enfermedades de fin de ciclo de soja. El hallazgo de fengicinas con actividad antibacteriana y la ausencia de citotoxicidad de las mismas en células humanas podrían ser un punto de partida para el diseño de nuevos agentes antimicrobianos.

## ENTORNOS MINEROS COMO FUENTE DE MICROORGANISMOS RESISTENTES A METALES PESADOS

Bonilla JO (1), Della Vedova C (1), Callegari EA (2), Paez MD (2), Gil RA (1), Villegas LB (1)\*  
(1) FQByF-UNSL-INQUISAL-CONICET, San Luis, Argentina.(2) Division of Basic Biomedical Sciences Sanford School of Medicine, University of South Dakota, Vermillion, SD, USA e-mail: \*livilleg@gmail.com

Los metales pesados afectan profundamente los sistemas biológicos, ya sea porque son esenciales o porque son tóxicos cuando están presentes en cantidades excesivas. A pesar de la toxicidad de los metales pesados, algunos microorganismos han mostrado la capacidad de poseer mecanismos homeostáticos que les permiten resistir altas concentraciones de estos metales. Teniendo en cuenta la gran diversidad microbiana y ambiental, se considera importante el aislamiento de microorganismos en hábitats que actúen como presión de selección y favorezcan la expresión de estos mecanismos de homeostasis, con el fin de encontrar microorganismos más competentes en relación a las características deseadas.

Nuestro grupo de trabajo aisló y caracterizó microorganismos resistentes a metales pesados a partir de sedimentos de una mina de oro abandonada en San Luis (Argentina). Se evaluó la capacidad de remoción de Cu(II) y la composición microelemental de la biomasa expuesta al metal utilizando Microscopía Electrónica de Barrido acoplada a Espectrometría de Energía Dispersiva de Rayos X (SEM-EDS). Asimismo, se aplicaron técnicas proteómicas independientes de gel para evaluar la expresión diferencial de proteínas en presencia de cobre. Los resultados se compararon con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 32051, utilizado como organismo modelo.

Entre los microorganismos aislados, se seleccionaron *Fusarium tricinctum* M6 y *Apiotrichum loubieri* M12 por presentar la mayor capacidad de remoción de Cu(II). La presencia del metal inhibió el crecimiento de ambos, pero presentaron mayor habilidad de remoción del metal y mayor capacidad de producción de biomasa, en relación a *S. cerevisiae* ATCC 32051.

Los resultados de SEM-EDS confirmaron la presencia de cobre en las cepas en estudio y cambios en la composición microelemental de la biomasa, lo que permitió establecer relaciones entre Cu(II) y el resto de los elementos constitutivos. Los estudios proteómicos intra y extracelulares revelaron ajustes en la expresión proteica de los microorganismos expuestos al metal. Se encontraron proteínas implicadas en diferentes procesos metabólicos y un gran número de proteínas con sitios de unión a iones metálicos. Si bien se detectó una respuesta global compartida por los microorganismos en estudio, también se detectaron respuestas específicas a la presencia de Cu(II), especialmente en los microorganismos provenientes del entorno minero.

Los resultados indican que el reajuste del proteoma cumple una función importante en cuanto al secuestro y transporte de cobre, que ayuda a disminuir los efectos de estrés provocados por la presencia de Cu(II). El estudio de organismos que pueden resistir altas concentraciones de metales es importante no solo para la comprensión de los mecanismos de incorporación selectiva e inmovilización de cobre, sino también por los esfuerzos para aprovechar estas habilidades en procesos de biorremediación o tratamiento de efluentes.

**RESPONSE TO LETHAL UVA RADIATION IN THE ANTARCTIC BACTERIUM  
*Pseudomonas extremaustralis***

Paula M Tribelli (1,2), Magdalena Pezzoni (3), María Gabriela Brito (2), Nahuel V Montesinos (4,5),  
Cristina S Costa (3), Nancy I López (1,2)\*

(1) Dpto. Química Biológica Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. (2) IQUIBICEN-CONICET, CABA, Argentina. (3) Dpto. de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica, Prov. de Buenos Aires, Argentina. (4) División Química de la Remediación Ambiental, Comisión Nacional de Energía Atómica, Prov. de Buenos Aires, Argentina. (5) Centro de Tecnologías Químicas, UTN-FRA, CABA, Argentina.

\*nan@qb.fcen.uba.ar

*Pseudomonas extremaustralis* is an Antarctic bacterium with high stress resistance, able to grow under cold conditions. It is capable to produce polyhydroxyalkanoates (PHAs) mainly as polyhydroxybutyrate (PHB) and, to a lesser extent, medium-chain length polyhydroxyalkanoates (mclPHAs). In this work main objective is to analyze the role of PHAs and cold adaptation in the survival of *P. extremaustralis* after lethal UVA exposure. To achieve this objective, bacteria (*P. extremaustralis* 14-3b and its PHA- and PHB- derivative mutant strains and the PHB complemented strain) were grown at 10 °C or 30 °C to stationary phase in LB or LBO (LB supplemented with sodium octanoate as carbon source for PHAs accumulation). After washes the bacterial suspensions adjusted to  $DO_{600nm}=0.4$  were divided into two 30-mL fractions, which were each placed in a glass beaker. One of these fractions was irradiated from above at a fluence rate of 20 W/m<sup>2</sup> at the level of the free surface of the suspension, while the other fraction remained in the dark. Serial dilutions of cell suspensions exposed to UVA radiation or maintained in the dark were performed and plated on LB solid medium. Plates were immediately incubated at 30 °C in the dark to prevent light-induced DNA repair and the colonies were counted after 24–48 h. Survival was expressed as a fraction of the number of colony forming units (CFU) per mL at initial time (t<sub>0</sub>). Catalase activity was measured by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decomposition while redox state was analyzed using NADH/NAD<sup>+</sup> determinations. Additionally, polyhydroxyalkanoates accumulation was measure using gas chromatography (GC) methodology. PHAs granule interaction with UV light was analyzed by light scattering and absorption determinations.

*P. extremaustralis* presented higher radiation resistance under polymer accumulation conditions. This result was also observed in the derivative mutant strain PHA<sup>-</sup>, deficient for mclPHAs production. On the contrary, the PHB<sup>-</sup> derivative mutant, deficient for PHB production, showed high sensitivity to UVA exposure. Complementation of the PHB<sup>-</sup> strain restored the wild-type resistance level, indicating that the UVA-sensitive phenotype is due to the lack of PHB. All strains exhibited high sensitivity to radiation when cultured under PHAs non-accumulation conditions. A slight decrease in PHB content was observed after UVA exposure in association with increased survival. The scattering of UVA radiation by intracellular PHAs granules could also result in bacterial cell protection. In addition, cold conditions improved UVA tolerance, probably depending on PHB mobilization. Results showed that PHB accumulation is crucial in the resistance to UVA in *P. extremaustralis*. Mechanisms involved probably entail depolymerization and light scattering acting as a screen, both conferring protection against oxidative stress.

## BIODIVERSIDAD Y BIOPROSPECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOS PSICOTRÓFICOS DE ANTÁRTIDA ARGENTINA

María Martha Martorell (1,2)\*, Walter Patricio Mac Cormack (1,2),  
Lucas Adolfo Mauro Ruberto (1,2)

(1) Instituto Antártico Argentino, General San Martín, Buenos Aires, Argentina. (2) NANOBIOTEC-UBA-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*marmartorellsaez@gmail.com, \*mmartorell@ffyb.uba.ar

Uno de los ambientes extremos más extensos y menos explorados del planeta lo representan las regiones permanentemente frías, tales como las áreas polares del Ártico y el continente Antártico. Allí dominan los microorganismos adaptados al frío, o psicrotróficos, que pueden desarrollarse incluso a 0°C. Diferencias en la composición de las membranas, enzimas menos rígidas y moléculas anticongelantes son sólo algunas muestras de los mecanismos de adaptación de estos organismos. La combinación de baja temperatura con otros factores limitantes (baja actividad de agua, alta radiación solar, oligotrofia, estrés oxidativo) define si un organismo puede sobrevivir o prosperar en un ambiente determinado.

La Antártida representa el sitio más adecuado para la búsqueda y el estudio de microorganismos psicrotróficos, ya sean marinos o terrestres. Esta región se encuentra durante todo el año sometida a temperaturas que raramente superan el punto de congelamiento del agua y, si bien puede considerarse más accesible que los grandes fondos marinos (junto con las regiones polares, la otra gran región del planeta con condiciones de "psicrofilia" permanente), su situación geográfica, su difícil acceso e incluso la legislación internacional a nivel diplomático y político de sus tierras y mares, la hacen una región aún muy poco explorada en cuanto a su biodiversidad microbiana. La importancia de contar con colecciones de microorganismos provenientes de este ambiente ha sido mencionada reiteradamente por el Comité del Tratado Antártico como paso fundamental para la bioprospección. Un conocimiento acabado de la biodiversidad de hongos filamentosos presentes en los diferentes ecosistemas Antárticos, posibilitará el descubrimiento de microorganismos psicrotróficos con nuevas rutas metabólicas que permitirán el desarrollo de nuevos compuestos con aplicación biotecnológica.

Las actividades de prospección en hongos han sido escasas en comparación con las que se centraron en las bacterias. Esto hace que potencialmente existan numerosas moléculas activas por descubrir. La búsqueda de MS en hongos no descritos hasta ahora amplía las probabilidades de encontrar moléculas novedosas.

El grupo de Microbiología del Instituto Antártico Argentino posee actualmente una colección de aproximadamente 300 aislamientos de hongos y levaduras antárticos, dicha colección aumenta año a año por la participación en las Campañas Antárticas de Verano (CAVs). Las levaduras y hongos antárticos aislados durante las CAVs demostraron: 1) producir enzimas hidrolíticas activas a bajas temperaturas y 2) tener capacidades para asimilar fenol, metanol, hidrocarburos y colorantes sintéticos y para tolerar metales pesados (cromo, cobre y cadmio), lo cual los hace potenciales microorganismos para ser utilizados en procesos de biorremediación en Antártida y otros ambientes de clima frío. Actualmente el enfoque está en la búsqueda de metabolitos secundarios (péptidos y lipopéptidos) con actividad antifúngica.

**APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA CRISPRi PARA SILENCIAR GENES EN LAS ARQUEAS**

De Castro, Rosana (1)\*, Ferrari M.C.(1), Schwarz, T.S. (2), Marchfelder A (2)

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas, IIB-CONICET-UNMDP, Mar del Plata, Argentina. (2)

Department of Biology II, Ulm University, 89069 Ulm, Germany.

\*decastro@mdp.edu.ar

CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR assoiated) es un mecanismo que han desarrollado los procariontes (bacterias y arqueas) para defenderse de elementos genéticos invasores. Si bien existen diferentes versiones, todas tienen en común dos componentes esenciales para su funcionamiento: las proteínas Cas y ARNs reguladores (crRNAs). Las proteínas Cas son guiadas por el crRNA hacia una secuencia diana específica que es luego degradada por las proteínas Cas. El sistema CRISPR-Cas (tipo II CRISPR-Cas-9) ha sido adaptado y se aplica como herramienta para la edición de genomas y regulación de la expresión génica en bacterias y eucariontes.

En las arqueas el sistema CRISPR-Cas se encuentra ampliamente distribuido (90 %) y uno de los más caracterizados es el de *Haloferax volcanii*, organismo que se desarrolla en ambientes hiposalinos (>1,5 M NaCl) y es considerado un modelo para estudios fundamentales de la biología arqueana. *H. volcanii* contiene un sistema CRISPR-Cas tipo I-B compuesto por tres loci CRISPR y ocho proteínas Cas, entre las cuales Cas3 es la endonucleasa que degrada al ADN diana. El sistema endógeno de *H. volcanii* ha sido modificado para silenciar genes, ampliando de este modo la disponibilidad de estrategias moleculares para manipular la genética y fisiología en estos organismos. La tecnología CRISPR de interferencia (CRISPRi) en *H. volcanii* permite reprimir la expresión de genes esenciales para explorar su función, es aplicable a genes localizados en cromosomas y plásmidos, tanto monocistrónicos como localizados en operones.

En base a estos antecedentes, en nuestro grupo aplicamos CRISPRi sobre el gen codificante de la proteasa LonB y sobre un gen de función desconocida en *H. volcanii*. LonB es una proteasa esencial para esta haloarquea y un regulador negativo de la producción de pigmentos carotenoides dado que afecta la degradación de una enzima clave de la ruta carotenogénica. Se diseñaron varios ARN guía (crRNAs) complementarios a la región promotora y sitio de inicio de transcripción, con los que se transformaron células de una cepa de *H. volcanii* carente de los genes *cas3* y *cas6b* (cepa HV30). Se analizó la eficiencia del silenciamiento génico (Northern y Western blotting) y el fenotipo de las transformantes. Para el gen *lonB* (HVO\_0783) se obtuvieron colonias hiperpigmentadas con un incremento de al menos 5 veces en el contenido del carotenoide bacterioruberina, consistente con una represión del gen *lonB* cercana al 70 %.

## RECONSTRUCCIÓN DE CRISPR A PARTIR DE METAGENOMAS COMO HERRAMIENTA PARA EL ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES FAGO-BACTERIA EN EL AMBIENTE

Leandro D. Guerrero (1)\*

(1) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr Héctor N. Torres” (INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

\*lguerrero@dna.uba.ar

El sistema de tratamiento de efluentes por barros activados es un proceso dominado por bacterias. Estas bacterias conforman una comunidad donde se dan complejas interacciones entre sí, con el ambiente y con otros organismos. La presencia de virus bacteriófagos (fagos) en concentraciones superiores a las de las bacterias, sugiere que juegan un papel fundamental como predadores, modelando la estructura de la comunidad. En consecuencia, las bacterias han desarrollado sistemas de defensa que les permiten sobrevivir al ataque de los fagos. Dentro de estos mecanismos destacan los sistemas CRISPR-Cas. Estos cumplen la función de identificar y defenderse frente a nuevas infecciones por fagos a los que la bacteria ya estuvo expuesta. Una de las particularidades de este sistema, es que permite llevar un registro de las infecciones pasadas al ir incorporando pequeñas secuencias del genoma del fago (espaciadores) al arreglo CRISPR de forma secuencial y ordenada. Por lo tanto, el análisis de las secuencias codificadas en los CRISPR ofrece la posibilidad de identificar pares de fago-bacteria y de esta forma, reconstruir su dinámica tanto espacial como temporal.

En nuestro laboratorio hemos desarrollado una estrategia para reconstruir arreglos CRISPR a partir de secuencias metagenómicas de muestras ambientales. Estos estudios nos permitieron identificar a una bacteria del género *Gordonia* y a dos de sus fagos en una planta de tratamiento de efluentes, y reconstruir su dinámica de interacción durante un periodo aproximado de tres años. Los resultados mostraron la existencia de múltiples variantes de un mismo arreglo CRISPR producto de la interacción con los fagos. Sin embargo, una variante mayoritaria presente en aproximadamente el 50% de las células de *Gordonia* no poseía espaciadores que otorguen resistencia contra los virus. Por otro lado, los fagos no mostraron cambios en su genoma dirigidos a escapar del sistema CRISPR.

Estos resultados, contrariamente a lo que se ha visto en experimentos de laboratorio, donde la interacción fago-bacteria ejerce una gran presión de selección sobre ambos, resaltan la importancia de realizar estudios directamente sobre las poblaciones en el ambiente, con el fin de entender mejor las complejas interacciones que ocurren en los sistemas a escala real.

## DECIPHERING THE BENEFICIAL PLANT - BACTERIA INTERACTION USING THE CRISPR-Cas9 TOOL

Maria Carolina Quecine

“Luiz de Queiroz” College of Agriculture, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

\*mquecine@usp.br

Plant growth-promoting bacteria (PGPB) provide beneficial effects on nutrient uptake, disease biocontrol and stress tolerance for a range of crops. Plant-PGPB-microbiome interactions have been explored to understand the molecular mechanisms involved with the host fitness improvement in order to develop more efficient bioinoculants. Quorum quenching (QQ) is an important system that has evolved in some bacteria as a competitive advantage for niche colonization. Other known mechanism involved in plant growth promotion is the indole acetic acid (IAA) biosynthesis. In *Bacillus* spp. the synthesis of IAA and QQ molecules may occur through different metabolic pathways that are still poorly understood. The *aiiA* and *ipdC* are key genes involved in QQ and IAA production. Both genes were identified in *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) RZ2MS9 genome, a PGPB isolated from the Amazonian rainforest region and that has been described as a potential bioinoculant for maize (*Zea mays* L.). Thus, we performed the *aiiA* and *ipdC* knockout using the CRISPR-Cas9 system, generating the mutant RZ2MS9  $\Delta$ *aiiA* and  $\Delta$ *ipdC*. The influence of QQ activity and IAA production by RZ2MS9 for maize growth promotion and its implications in the persistence of the PGPB in the microbial community were investigated in a greenhouse experiment.

Our findings provide evidence that QQ activity and IAA of *Bt* RZ2MS9 are important mechanisms related to plant-PGPB-microbiome interaction. Strains abundance estimated by qPCR support the hypothesis that the ability of interfering in QS communication is relevant for the establishment of RZ2MS9 in a native microbial community and, consequently, for plant growth promotion. Moreover we also concluded IAA biosynthesis is directly influenced by the *ipdC* gene and is the major mechanism used by *Bt* RZ2MS9 to maize modulate plant growth and host colonization.

## POTENCIALIDADES DE LOS HONGOS COMO AGENTES EN EL CONTROL DE INSECTOS

Gustavo Angel Bich (1), María Lorena Castrillo (1, 2), Marcela Barengo (1, 2), Natalia Amerio (1, 2), Marilyn Silva (1, 2), Tania Tamara Pedrozo (1), Laura L. Villalba (1, 2), Pedro Darío Zapata (1, 2)\*

(1) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María Ebe Reca” (InBioMis). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Posadas, Misiones, Argentina. (2) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

\*inbiomis@gmail.com

A lo largo del tiempo diversos hongos han sido utilizados como potenciales controladores de insectos plaga por su capacidad de generar una disminución significativa de la población o de su capacidad reproductiva. Si bien existen muchas especies de hongos que pueden ser utilizados, los integrantes de los géneros *Trichoderma*, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* y *Escovopsis* son los más estudiados y promisorios.

Nuestro grupo ha seleccionado, luego de una amplia evaluación cualitativa y cuantitativa, 35 cepas del género *Trichoderma spp.*, 10 cepas entomopatógenas (*Beauveria sp.*, *Metarhizium sp.*, *Paecilomyces sp.*) y 14 cepas del género *Escovopsis sp.* con potencialidad para su uso como bioinsecticida y control biológico de plagas. Para ello se han realizado ensayos de enfrentamiento con hongos fitopatógenos (*Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Lasiodiplodia spp.*, etc.), ensayos de patogenicidad frente a insectos plaga y tolerancia a pesticidas usados frecuentemente. Además, para el caso de una de las cepas más prometedoras de *Trichoderma koningiopsis* se avanzó en la secuenciación y anotación del genoma, así como en la localización y caracterización de genes que codifican a enzimas micolíticas implicadas en el proceso de control biológico.

Uno de los desarrollos biotecnológicos más avanzados de nuestro grupo, y que incluso ya ha sido transferido en parte, corresponde al aislamiento y caracterización de cepas nativas de hongos entomopatógenos para mejorar el control biológico de hormigas cortadoras de hojas. Se han preseleccionado a partir de su capacidad entomopatógena 3 cepas de *Beauveria sp.* y 2 de *Metarhizium sp.*. Para estas cepas los bioensayos de entomopatogenicidad frente a hormigas del género *Atta spp.* y *Acromyrmex spp.* permitieron determinar el parámetro de tiempo Letal TL50% y TL90% entre todas las cepas. Se observó que en un máximo de 5 días se producía la mortandad del 50% de las hormigas tratadas a una dosis de  $10^6$  esporas/mL.

Se ajustaron las condiciones de producción considerando la agitación y los fotoperíodos como variables críticas para la producción de biomasa y esporulación. La producción de biomasa se intensifica con un cultivo en condiciones estáticas y en presencia de luz. En el caso de *Beauveria sp.* la esporulación mejoró con la oscuridad y agitaciones entre 100-200 rpm, mientras que para *Metarhizium sp.* fue necesaria la presencia de luz y una agitación de 200 rpm para el mismo proceso.

Los ensayos en campo realizados en cultivos forestales han sido muy promisorios, dado que se pudo probar la efectividad de los entomopatógenos seleccionados. Además, con el fin de desarrollar, registrar y aplicar esta tecnología de control biológico es necesario garantizar la seguridad ambiental por lo cual se evaluó el efecto de estos agentes fúngicos biocontroladores sobre organismos no blanco y beneficiosos en cultivos hortícolas y plantaciones forestales de Misiones sin observarse interacciones negativas entre ellas, ni con organismos no blanco de los ecosistemas donde podrían ser aplicadas.

***Bacillus thuringiensis*: APLICACIÓN AL CONTROL DE *Spodoptera frugiperda***

Flavia Loto

Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI), San Miguel de Tucumán,  
Argentina

flavialoto@gmail.com

Las plagas de insectos son responsables de destruir anualmente una quinta parte de la producción total de cultivos del mundo, lo que provoca grandes pérdidas económicas. El uso intensivo de insecticidas químicos para la eliminación de plagas de insectos y mejorar la producción de cultivos agrícolas, ha ocasionado consecuencias ambientales graves como la persistencia, la toxicidad a diferentes organismos, incluidos los humanos y la aparición de plagas resistentes. Dentro de los productos alternativos a los químicos, los productos en aerosol a base de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae) se utilizan ampliamente como agentes de control, compatibles con prácticas agrícolas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente. Estos productos tienen acción entomopatógena sobre el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), que es considerado como plaga principal de cultivos de maíz, soja, algodón y secundaria de algunas hortalizas.

*Bacillus thuringiensis* posee la característica de producir proteínas insecticidas denominadas delta endotoxinas o proteínas Cry, por lo que es utilizada en el control de plagas agrícolas y sanitarias. También produce otros factores de virulencia como ser: exotoxinas, fosfolipasas, quitinasas y proteasas, los cuales actúan sobre diversos órdenes de insectos, entre los que se encuentran, dípteros, coleópteros y lepidópteros. Particularmente en *Bt* se han identificado actividades proteolíticas capaces de activar o degradar proteínas Cry, disminuyendo o aumentando su actividad insecticida. También mostraron ser capaces de destruir tejidos internos de *Spodoptera frugiperda*.

El uso de bioinsecticidas basados en *Bacillus thuringiensis* para controlar *S. frugiperda* representa una alternativa prometedora al uso intensivo de insecticidas químicos. Hay poca información sobre la toxicidad de las formulaciones de *Bt* contra cepas de *S. frugiperda* a nivel regional. Por lo que una mejor comprensión de la respuesta de los insectos es de gran interés en términos de la aplicación de bioplaguicidas.

## BACTERIAS ENDOSIMBIOTES Y NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS, ALIADOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS

Daiana P. Eliceche, María Fernanda Achinelly\*  
CEPAVE-CCT-La Plata-CONICET-UNLP, Buenos Aires, Argentina  
\*fachinelly@cepave.edu.ar

Los nematodos pertenecientes a las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae son considerados entomopatógenos por su relación mutualista con las bacterias del género *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* (Enterobacteriaceae) respectivamente, debido a que cada uno requiere del otro para proliferar en detrimento del insecto hospedador. El nematodo emplea a la bacteria como ayuda para superar las defensas del hospedador, para proteger el cadáver del insecto contra microorganismos saprófitos y como sustrato para el crecimiento y su reproducción. Las bacterias a su vez utilizan al nematodo como vector para su liberación en el hemocele del insecto y para persistir fuera del mismo. Esta asociación mutualista favorece el desarrollo, la multiplicación y la infectividad de los nematodos, ya que aquellos que carezcan de la bacteria simbiote no producirán patogenicidad. Debido a estas características son ampliamente utilizados como agentes de biocontrol. En este marco, la eficacia de este complejo nematodo-bacteria fue testeado contra insectos de importancia agrícola en el cinturón hortícola de La Plata, Buenos Aires, con especial énfasis en el nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* cepa SUP y su bacteria endosimbionte *Photorhabdus laumondii* LP1900. El nematodo fue recuperado de suelos provenientes de cultivos de tomate y sus características bioecológicas han sido determinadas. Estudios realizados demostraron efectividad en el control del gorgojo del tomate *Phyrdenus muriceus* (Coleoptera) tanto en condiciones de laboratorio como de campo. Las aplicaciones en primavera sobre una superficie de 1000 m<sup>2</sup> en cultivos de berenjena, indicaron una reducción del 40% en las poblaciones de *P. muriceus*, evidenciada por una disminución del daño foliar después de la segunda aplicación. La persistencia de los nematodos fue observada en el suelo hasta siete meses post-aplicación. La producción *in vivo* de *H. bacteriophora* SUP y del aislamiento *H. bacteriophora* VELI en larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera) y *Tenebrio molitor* (Coleoptera) fue optimizada, determinándose los requerimientos adecuados para el mantenimiento de la infectividad durante la etapa de almacenamiento en el laboratorio. La patogenicidad de estos aislamientos fue también observada en insectos tales como el grillo subterráneo *Anurogryllus muticus* (Orthoptera), el gusano blanco *Diloboderus abderus* y el escarabajo de la savia *Lobiopa insularis* (Coleoptera), las orugas *Hylesia nigricans* (bicho quemador) y *Spodoptera frugiperda* (cogollero del maíz) (Lepidoptera) y en crustáceos como el bicho bolita *Armadillidium vulgare* (Isopoda). Las características ecológicas de los nematodos entomopatógenos difieren según las condiciones climáticas, reflejando la localidad de origen. Esto limita o promueve la eficacia e influye en el éxito de la producción en el laboratorio y desempeño a campo. En este sentido, el complejo *Heterorhabditis bacteriophora* SUP junto a la bacteria endosimbionte *Photorhabdus laumondii* LP1900 resultaron eficaces para el control de artrópodos plaga en el cinturón hortícola platense. El presente estudio es parte de un proyecto que busca incentivar y capacitar a la agricultura familiar de la región en la incorporación de estrategias de biocontrol.

## CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A LA RIZÓSFERA DE LA VID

Mónica Oyuela Aguilar (1), Liliana Semorile (2), Mariano Pistorio (1)\*

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM), CCT-La Plata, CONICET, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. (2) Universidad Nacional de Quilmes (UNQ), Departamento de Ciencia y Tecnología, Instituto de Microbiología Básica y Aplicada, Laboratorio de Microbiología Molecular, Roque Sáenz Peña 352 (B1876) Bernal, Buenos Aires, Argentina.

\*pistorio@biol.unlp.edu.ar

El rol de la comunidad de microorganismos es central en la elaboración del vino, a pesar de ello se encuentra no de todo caracterizada. Las comunidades microbianas asociadas a la rizósfera de la vid pueden desempeñar funciones específicas en la resistencia a enfermedades y en la productividad de los cultivos. Además, los microorganismos presentes en las uvas tienen el potencial de modificar las propiedades organolépticas del vino, contribuyendo a la expresión del *terroir* regional en los mismos, concepto que incluye características específicas del material vegetal, del manejo, del suelo y todos los factores implicados del medio ambiente que pueden influir en las propiedades distintivas de las uvas producidas en ese lugar y, por tanto, transferir su singularidad a los vinos obtenidos. La secuenciación de alto rendimiento de amplicones del ARNr 16S y ITS para el análisis de comunidades microbianas complejas ha aumentado drásticamente en los últimos años, estableciendo vínculos entre la especificidad del vino y los factores ambientales y vitivinícolas, que se enmarcan en el escurridizo concepto *terroir*. Dado el papel diverso y complejo que estos factores juegan en la estructuración microbiana del suelo, el objetivo que nos planteamos fue evaluar cómo los factores externos, como el año cosecha, la ubicación del viñedo, el cultivar y las características del suelo, pueden afectar la diversidad de las comunidades microbianas presentes. Para ello se obtuvieron muestras de los cultivares Malbec y Cabernet Sauvignon de dos viñedos diferentes en la provincia argentina de San Juan. Los ADN totales de las muestras de suelo de la rizósfera se secuenciaron utilizando la tecnología Miseq de Illumina, dirigida a la región hipervariable de ARNr 16S V3-V4 en procariotas y a la región ITS1 en levaduras. Los principales taxones bacterianos identificados fueron Proteobacteria, Bacteroidetes y Firmicutes, mientras que los principales taxones de hongos fueron Ascomycetes, Basidiomycetes, Mortierellomycetes y un bajo porcentaje de Glomeromycetes. Se encontraron diferencias significativas en la composición de la comunidad microbiana entre las añadas y la ubicación de los viñedos, cuyos suelos mostraron variaciones en el pH, materia orgánica y contenido de carbono, nitrógeno y fósforo absorbible.

**PERSISTENCIA DE BACTERIAS DE LOS GÉNEROS *Azospirillum* Y *Herbaspirillum* E  
IMPACTO DE SU INOCULACIÓN EN LA MICROBIOTA DIAZÓTROFA ASOCIADA A RAÍCES  
DE ARROZ**

Gastón Rariz (1,2), Lucía Ferrando (1), Ana Fernández Scavino (1)\*  
Laboratorio de Ecología Microbiana Medioambiental.

(1) Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. (2) Unidad Asociada de Microbiología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

\*afernand@fq.edu.uy

La asociación de algunas bacterias con gramíneas puede tener un impacto importante en la productividad y salud de los cultivos. Estas bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) se asocian a las raíces de las plantas y estimulan su crecimiento por mecanismos como la producción de hormonas, el antagonismo de patógenos o la fijación de nitrógeno. En Latinoamérica se han desarrollado diversos productos biotecnológicos, inoculantes comerciales para gramíneas, cuyo principal ingrediente activo son estas bacterias. El éxito de la estimulación del crecimiento vegetal depende de que las bacterias inoculadas se establezcan por un tiempo en asociación con la planta hospedera, y que establezcan una interacción positiva con la microbiota de la planta y del suelo circundante.

La producción de arroz (*Oryza sativa*) es un rubro principal de exportación para Uruguay, que ocupa entre el 5º y 8º lugar entre los países exportadores. Para potenciar el desempeño del cultivo y mejorar la sustentabilidad se han utilizado inoculantes de gramíneas de los géneros *Azospirillum* y *Herbaspirillum*. El cultivo de arroz presenta un desafío para la persistencia de la asociación entre estas bacterias y las raíces de las plantas, ya que después de la emergencia se inunda el suelo, favoreciendo las condiciones anóxicas que imponen otro metabolismo a las bacterias inoculadas y cambios en la microbiota nativa asociada al cultivo.

En este trabajo se analiza la dinámica de poblaciones de los géneros *Azospirillum* y *Herbaspirillum* en plantas inoculadas y no inoculadas, así como el impacto de la inoculación en la diversidad de bacterias diazótropas nativas del suelo que se asocian naturalmente a las raíces de arroz.

Mediante PCR cuantitativa se observó que bacterias de los géneros *Azospirillum* y *Herbaspirillum* del suelo se asociaron rápidamente a las raíces de plantas no inoculadas. Las bacterias de estos géneros permanecieron asociadas a las raíces tanto en plantas inoculadas como no inoculadas y su densidad dependió del estado fenológico de la planta. La densidad de bacterias diazótropas no fue significativamente diferente en los distintos tratamientos. Sin embargo, la estructura de la comunidad de bacterias diazótropas asociadas, evaluada mediante secuenciación masiva de genes *nifH*, experimentó un fuerte impacto dependiendo del tratamiento de inoculación.

## LA MICROBIOTA ENDOFÍTICA BACTERIANA Y SU INTERACCIÓN CON CULTIVOS DE INTERÉS AGRONÓMICO

Cecilia Taulé, Patricia Vaz, Cintia Mareque, Cecilia de los Santos, Federico Battistoni\*  
Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo, Departamento de Bioquímica y Genómica  
Microbianas (BIOGEM). Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE).  
Montevideo, Uruguay.  
\*fbattistoni@iibce.edu.uy

El holobionte planta está compuesto por el conjunto de organismos que viven sobre o dentro de los tejidos internos de la misma. Uno de los componentes del holobionte es la microbiota, quien aloja una gran diversidad de microorganismos que proveen funciones y características específicas, influenciando su fenotipo. El fenotipo del holobionte planta es afectado por el genotipo de la misma, factores bióticos y abióticos, así como las prácticas agrícolas de manejo. Los endófitos bacterianos componente de la microbiota, son aquellas bacterias que invaden los tejidos internos de la planta sin causar daño aparente. Dichos endófitos han sido ampliamente reportados como promotores del crecimiento vegetal (PCV) de diversas plantas, mediante mecanismos como la bioestimulación o biodisponibilización de nutrientes esenciales entre otros.

Las prácticas agrícolas actuales implican la aplicación de grandes cantidades de fertilizantes químicos, principalmente nitrogenados, para el óptimo crecimiento y rendimiento de los cultivos. Esta práctica, provoca graves problemas de sustentabilidad económica y ambiental, resaltando la necesidad de la búsqueda e implementación de nuevos modelos productivos agrícolas. En este contexto las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), surgen como alternativa a las prácticas actuales.

El Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo tiene como objetivo el generar conocimientos sobre la microbiota endofítica asociada a cultivos de interés agronómico, desde un punto de vista básico y aplicado. La finalidad es generar insumos para el desarrollo de bioinoculantes basados en BPCV, particularmente endófitos. Entre los cultivos que se estudian se encuentran la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y el sorgo dulce (*Sorghum bicolor*), ambos cultivos multipropósitos; o la festuca (*Festuca arundinacea*), una gramínea forrajera. A partir de estos cultivos se construyeron colecciones bacterianas asociadas a los tejidos internos de semillas, raíces y tallos. Dichas colecciones fueron caracterizadas bioquímica, fisiológica y genéticamente, identificándose una diversidad de aislamientos endofíticos PCV con potencial uso biotecnológico. En el caso de la caña de azúcar, se comprobó que la fijación biológica del nitrógeno por la bacteria endofita diazotrofa PCV *Kosakonia radicincitans* UYSO10, está implicada en la PCV. Asimismo, se avanzó en la caracterización de los microbiomas asociados a los tejidos internos de estos cultivos. En este sentido se comprobó que la fertilización química afecta la abundancia, composición, estructura y la PCV en el cultivo de sorgo dulce. Por otra parte, se comprobó que la inoculación con la cepa endofita PCV *Streptomyces albidoflavus* UYFA156, afecta la composición y diversidad del microbioma endofítico asociado a las raíces de festuca, así como las características fisiológicas de la microbiota asociada.

**RED DE DETECCIÓN DEL SARS-COV-2 EN AGUAS RESIDUALES DEL MINCYT**

Carolina Vera

Unidad de Gabinete de Asesores, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, Buenos Aires,  
Argentina  
cvera@mincyt.gob.ar

Desde el inicio de la pandemia varios grupos de investigación de universidades nacionales e instituciones científico-tecnológicas de diversos lugares del país presentaron proyectos en las convocatorias de la Unidad Coronavirus del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MINCYT), quien, además, conformó la “red federal de detección del SARS-CoV-2 en aguas residuales “. El objetivo de la red es determinar la prevalencia y evolución de la epidemia de COVID-19 a nivel poblacional a partir del análisis de muestras de aguas residuales. La red está actualmente compuesta por 11 iniciativas distribuidas a lo largo del país, con grupos en Salta, Tucumán, Mendoza, Neuquén, el conurbano bonaerense, Mar del Plata y Córdoba. En conjunto comenzaron a trabajar en mayo de 2020 en cuestiones como la definición de metodologías, la estrategia para la detección y cuantificación del virus en líquidos cloacales y la caracterización por secuenciación del virus, entre otros. El intercambio periódico y consistente entre los grupos ha acelerado la puesta a punto de las técnicas de muestreo y análisis del virus en aguas residuales.

En cada lugar, los grupos de investigación trabajan en articulación con las empresas de servicios públicos para el tratamiento de desagües cloacales y las áreas de salud de cada región analizada y se logró contar con una herramienta para la detección del virus en aguas residuales. Asimismo, en algunos lugares estas detecciones anticiparon la información provista por los testeos clínicos e inclusive dieron lugar a la implementación de políticas sanitarias localizadas.

**DETECCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO DE SARS-COV-2 EN MUESTRAS AMBIENTALES DE AGUAS RESIDUALES Y MATERIAL PARTICULADO PM<sub>10</sub>**

Leopoldo Germán Gebhard (1), Juan Manuel Carballeda (1),  
Ignacio Aiello (1), Néstor Gabriel Iglesias (1)\*

(1) Laboratorio de Virus Emergentes. Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

(2) CONICET, Buenos Aires, Argentina. (3) Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible,  
Buenos Aires, Argentina.

\*gabriel.iglesias@unq.edu.ar

El objetivo del trabajo fue detectar material genético del virus SARS-CoV-2 en muestras ambientales con el fin de determinar la circulación del virus en distintos sitios de la provincia de Buenos Aires. Para ello se puso a punto una metodología de detección de RNA viral en muestras de aguas residuales, ya que esta metodología posibilita evaluar la presencia del virus a nivel poblacional. Hasta el momento se analizaron más de 600 muestras de aguas residuales provenientes de distintos barrios vulnerables de la provincia. Este trabajo permitió sumar una herramienta útil para el monitoreo y la vigilancia epidemiológica del virus en la provincia. Como parte del trabajo también se tomaron muestras de material particulado en tres estaciones de trenes y se puso a punto la detección de material genético del virus a partir de estas muestras. Los resultados muestran que el análisis de muestras ambientales es útil para monitorear la circulación del virus y que es una herramienta adicional que puede complementar las estrategias tradicionales de vigilancia epidemiológica.

## RASTREO DE SARS- CoV -2 EN AGUAS SUPERFICIALES Y RESIDUALES DE SALTA, APORTE A LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

Sarita Isabel Reyes (1), Juan Martín Mainardi Remis (1,2), Mercedes Cecilia Cruz (1), María Noel Maidana Kulezsa (1), Diego Gastón Sanguino Jorquera (1), Milagros Said Adamo (1,3), Hugo Ramiro Poma (1), Dolores Gutiérrez Cacciabue (1,2), Verónica Patricia Irazusta (1,3), Mónica Aparicio González (1), Héctor Antonio Cristóbal (1,3), Jorge Emilio Almazán (1,2), Verónica Beatriz Rajal (1,2)\*

(1) Laboratorio de Aguas y Suelos, Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI)- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Salta (UNSa), Salta Argentina. (2) Facultad de Ingeniería, UNSa, Salta, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina

\*vbrajal@gmail.com

Una gran proporción de los individuos infectados con SARS-CoV-2 excretan el virus por materia fecal y orina (además de por otras vías), lo que termina formando parte de las aguas residuales. Desde los inicios de la pandemia de COVID-19 el Laboratorio de Aguas y Suelos (LAGS), aprovechando su experiencia previa en la vigilancia ambiental de virus entéricos, bacterias y parásitos humanos, se abocó al rastreo del nuevo virus en aguas superficiales y residuales de la ciudad de Salta y alrededores.

Desde julio de 2020, se monitorearon cinco puntos correspondientes a tres ríos: Arenales, Mojotoro y La Caldera; los dos primeros reciben descargas de las dos plantas de tratamiento de efluentes de la ciudad. Se caracterizó fisicoquímica y bacteriológicamente el agua y se colectaron 20 L que se concentraron por ultrafiltración. El concentrado, luego de una elución, se empleó para la extracción de ácidos nucleicos y posterior detección del virus (gen N) por retrotranscripción y PCR en tiempo real (RT-qPCR) en un paso y para la detección de dos marcadores de contaminación humana (poliovirus humano y RNasa P) por qPCR. Por otro lado, desde agosto de 2020 se analizaron muestras de aguas residuales de 13 puntos diferentes de la ciudad de Salta. Para ello, se colectaron 50 mL de agua que se pasteurizaron, luego se realizó la concentración del virus por precipitación con PEG 8000 y la resuspensión del pellet con Trizol, para después extraer los ácidos nucleicos y realizar la detección mediante RT-qPCR. Además, se colectaron datos de los casos de COVID-19 reportados por las autoridades de salud y de precipitaciones durante el período estudiado.

Los resultados permitieron ver la evolución de las variables medidas en los ríos y de la concentración viral durante el período estudiado. Por un lado, independientemente de la condición fisicoquímica y bacteriológica de las muestras, aproximadamente la mitad de ellas tuvieron fragmentos de SARS-CoV-2 en los ríos La Caldera y Mojotoro. Por otro, el río Arenales (altamente contaminado según las variables medidas) en cambio, sobre todo en uno de los dos puntos monitoreados, mostró que la concentración viral (y también la normalizada con los marcadores humanos determinados) fue alta y persistente y siguió la curva de casos reportados. Sin embargo, esta concentración viral fue alrededor de un orden de magnitud menor que la calculada como promedio ponderado de la ciudad empleando los 13 puntos monitoreados para las aguas residuales. La mayor discrepancia entre estos últimos valores y los del río Arenales se observaron durante los meses de verano en los que las precipitaciones fueron abundantes y produjeron un efecto de dilución en el río.

Los resultados obtenidos permiten concluir que las aguas residuales y los ríos altamente impactados por ellas, brindan información valiosa para las autoridades de salud en la vigilancia epidemiológica de la población.

# Simposio



## **EL PROTOCOLO DE NAGOYA Y EL PROCESO DE IMPLEMENTACIÓN A NIVEL NACIONAL**

Maria Julieta Ansaldi

Dirección Nacional de Biodiversidad, Secretaría de Política Ambiental en Recursos Naturales,  
Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

\*protocolodenagoya@ambiente.gob.ar

El Protocolo es un acuerdo complementario del Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) que fue adoptado en Nagoya (Japón) en la décima conferencia de las partes. Tiene por objetivo compartir los beneficios que se deriven de la utilización de los recursos genéticos de manera justa y equitativa, contribuyendo a la conservación y utilización sustentable de la diversidad biológica y proporcionando mayor certidumbre jurídica tanto a los proveedores como a los usuarios de los recursos genéticos.

Argentina ha adoptado el texto Protocolo de Nagoya mediante la Ley 27.246 en el 2015. En el 2016, se ratifica el Protocolo por medio de la entrega del documento de ley en la XIII Conferencia de las Partes celebrada en México en el año 2016. Finalmente, Argentina es considerado Parte del Protocolo desde marzo del 2017 y desde entonces se encuentra vigente en todo el territorio nacional.

El Protocolo de Nagoya retoma el reconocimiento, establecido en el año 1992 en el texto del CDB, de la soberanía de los países sobre sus recursos genéticos, los cuales dejan de ser considerados de libre acceso. A partir de este cambio de paradigma los usuarios que accedan y hagan uso de los recursos genéticos deberán compartir, con los proveedores de los mismos, los beneficios que se derivan de dicha utilización. Los recursos genéticos y sus compuestos bioquímicos, ya sean de origen animal, vegetal o microbiano pueden ser utilizados en una amplia gama de investigaciones científicas ya sean, con fines no comerciales o comerciales. En ese sentido, la biotecnología es clave para los desarrollos de estas investigaciones y por eso tiene especial atención dentro del texto del CDB y el Protocolo de Nagoya.

La regulación de los recursos genéticos se basa en dos instrumentos fundamentales: 1) Acceso: los usuarios que quieran acceder a los recursos genéticos para su utilización deberán obtener el consentimiento fundamentado previo del Estado (de la parte) proveedor de dicho recurso. Es decir, el país origen de los recursos y el usuario deben convenir las condiciones de acceso y utilización de los recursos genéticos a través de condiciones mutuamente convenidas. 2) Participación de los beneficios: la condición convenida incluye la participación de los beneficios que se deriven de la utilización de los recursos genéticos. Tales beneficios deberán ser compartidos de forma justa y equitativa con el Estado que los proporciona, los cuales pueden ser de naturaleza monetaria o no monetaria.

De acuerdo a nuestro sistema de gobierno federal, corresponde a las provincias conferir la autorización de acceso como prueba de la decisión de otorgar el consentimiento fundamentado previo y de que se han establecido condiciones mutuamente acordadas para el acceso a los recursos genéticos emplazados en sus respectivas jurisdicciones. En consecuencia, corresponde al Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible otorgar el Certificado de Cumplimiento, y darlo a conocer en el Centro de Intercambio de Información sobre Acceso a Recursos Genéticos y Participación de los Beneficios del Convenio sobre la Diversidad Biológica.

En ese sentido, y a fin de promover la aplicación del Protocolo de Nagoya en Argentina el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, autoridad de aplicación del CDB y del Protocolo de Nagoya, ejecuta con fondos internacionales del Fondo para el Medio Ambiente Global (FMAM) y el Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) un proyecto que tiene por objeto la formación de capacidades institucionales y el fortalecimiento del marco nacional normativo de acceso y distribución de beneficios (ABS).

## **NAGOYA DE EXTREMOFILOS PARA BIOTEC: LA LUZ AL FINAL DEL TUNEL**

Maria Eugenia Farias  
CRO CKAPUR - CIC Principal CONICET.  
\*mefarias2009@gmail.com

Mi nombre es Maria Eugenia Farias soy investigadora científica, y hace un año, empresaria biotecnológica: Inv. principal de CONICET y CRO y Co-founder de CKAPUR.

Desde hace 20 años, trabajo en extremófilos de Salares de altura en los Andes Centrales, llevo 2 décadas de ciencia básica y consultoría aplicada a la preservación, divulgación y puesta en valor de los ambientes donde trabajo.

Después de varios intentos infructuosos de llevar la ciencia básica a la biotecnología pudimos usar ese conocimiento básico para generar dos historias de aplicaciones biotecnológicas: en dos Start Ups financiadas por la incubadora GRIDX <https://gridexponential.com>:

1-CASPR-BIOTECH <https://caspr.bio> desarrolla kits de diagnósticos que se aplica a COVID19, Hanta virus y Dengue y está basada en nuevos sistemas CRISPR-Cas que descubrimos en los salares de la Puna y patentamos en USA.

2- Fundamos CKAPUR <https://ckapur.com> una empresa que desarrolla biotecnología sustentable aplicada al agro basada en microorganismos extremófilos.

En el año 2020 hemos logrado el primer tratado de NAGOYA de la Argentina, este proceso fue una de las experiencias más difíciles pero a la vez mas importantes de mi carrera científica. En esta presentación transmitiré mis experiencias, las malas en las que contaré mi errores y aprendizajes, y las buenas que surgieron de nuestra transformación de ecólogos a biotecnólogos microbianos.

## **COLECCIONES DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL INTA, ARGENTINA. BIOPROSPECCIÓN Y OTROS ASPECTOS VINCULADOS AL PROTOCOLO DE NAGOYA**

Alejandro Peticari\*, Joel Arneodo, Miriam Asselborn, Valeria Baldone, Viviana Barrera, Bibiana Brihuega, Pablo Cagliore, Franca Carrasco, Pablo Campos, María Ceron Cucchi, Erica Conforto, Valeria Chimeno, Mariana Combina, Valeria Faggioli, Andrea Fiorentino, Juliana Iglesias, Florencia Lucca, Romanella Marcellino, Laura Mercado, Mariana Melchiorre, Verónica Neder, Fernando Paolicchi, Andrea Pécora, María Pedraza, Carolina Perez Brandán, Carla Pertile, Juan Poo, Julieta Posadas, Mariana Puente, Valeria Salazar, Mónica Sagadín, Néstor Sarmiento, Diego Sauka, Mario Soria, Jorge Valdez, Lucio Valetti, Andrea Verna.  
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires. Argentina  
\*peticari.alejandro@inta.gob.ar

La República Argentina comprende una gran diversidad de climas y relieves, con ecosistemas propios para cada caso, como consecuencia de ello es alta la probabilidad de encontrar Recursos Genéticos Microbianos (RGM) de alto valor estratégico y de interés para el sector agropecuario. En el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) se ha generado una Red de RRGG y dentro de esta una destinada a los Recursos Microbianos con la finalidad de compatibilizar protocolos de preservación, documentación, intercambio y adecuación de permisos de acceso vinculados al Protocolo de Nagoya. Integrando la red se encuentran hasta el presente 28 colecciones y 2 bancos de células vinculados a la conservación. Alrededor de 20000 entradas documentadas. Con más 60 géneros bacterianos, 3 de protozoarios, 20 de hongos, más 40 tipos de virus y 30 líneas celulares. Un 60% de las colecciones utiliza el nitrógeno líquido para la conservación y el resto utiliza ultrafrío a -80 °C y/o liofilización. Las colecciones de INTA están vinculadas a Sanidad Animal, Sanidad Vegetal, Alimentación y Agroindustria. En el INTA los RRGG conservados están en proceso de armonización a la normativa vigente. Hay diversos ejemplos de solicitudes de permiso con situaciones óptimas de aplicación de la normativa (EEA Catamarca) como así también ejemplos de falta de respuestas o esperas prolongadas o ausencia de interlocutores para realizar los trámites de acceso (EEA Mendoza e IMYZA). Ante esta situación despareja y preocupante, se requiere una armonización consensuada a nivel nacional que permita simplificar la solicitud de los permisos de acceso de cada provincia, a fin de no inmovilizar las investigaciones que incluyen colectas frecuentes en el territorio. Desde la Red (REDGEN) propugnamos que haya un Sistema Nacional de RRGG con Bancos de conservación *ex situ* e *in situ* eficientes que permita un uso e intercambio sustentable de los materiales guardados.

## **INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE RECURSOS GENÉTICOS MICROBIANOS EN ARGENTINA: COMPLEJIDADES NORMATIVAS Y ESTRATEGIAS PARA SOBREVIVIR**

Luciana Carla Silvestri

Instituto de Ciencias Humanas, Sociales y Ambientales (INCIHUSA). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Mendoza, Argentina.

\*lsilvestri@mendoza-conicet.gob.ar

¿Investigas recursos genéticos microbianos en Argentina?, ¿se te ha ocurrido realizar un desarrollo sobre ellos? Si tu respuesta es un rotundo ¡sí!, probablemente te preguntes cómo sobrevivir a las complejidades normativas relacionadas al régimen de acceso a recursos genéticos y distribución de beneficios que ya has encontrado al abocarte a la tarea, o que te han advertido que encontrarás cuando decidas comenzar.

Hay que admitirlo: el mosaico normativo argentino de acceso a recursos genéticos y distribución de beneficios, mecanismo conocido por las siglas "ABS", de *Access and Benefit-Sharing*, no facilita el acceso y utilización sostenible de los recursos genéticos. Genera, además, desconcierto entre los principales actores. En el meollo del problema se encuentra la comunidad científica que está abocada al estudio de la biodiversidad del país; quien se ve limitada al menos de tres formas: a) por un acceso dificultoso a los recursos biológicos y/o genéticos que constituyen, por otra parte, un insumo necesario para sus investigaciones; b) por las complejidades que surgen al comercializar/transferir un desarrollo obtenido de la biodiversidad y c) por la pérdida de oportunidades referidas a la cooperación y colaboración científica y la transferencia de tecnología, entre otras.

Esta presentación tiene por objetivo contar qué es el ABS, cuáles son sus orígenes y qué pretende conseguir. Asimismo, se analizarán qué dificultades relacionadas con las normas nacionales y provinciales de ABS se encuentran al acceder a recursos genéticos en el marco de una investigación, cualesquiera sean los fines que ella persigue. A las complejidades anteriores, se agregarán, eventualmente, otras; cuyo origen se halla en regulaciones que sin reglamentar específicamente el ABS, también resultan aplicables a las actividades de acceso, transferencia, investigación y desarrollo de recursos genéticos. Éstas tienen carácter ambiental, fitosanitario, aduaneras, del régimen de la propiedad intelectual, etc. Por último, esta charla pretende ayudar a identificar qué estrategias puede seguir un investigador, la institución científica a la que pertenece o una empresa de base biotecnológica, para cumplir con el marco legal vigente de forma efectiva y eficiente. Una de las tácticas posibles, refiere al desarrollo e implementación de buenas prácticas sobre ABS y de códigos de conducta sobre el tema, entre otras estrategias.

## **COLECCIONES DE CULTIVOS MICROBIANOS EN ARGENTINA Y PROTOCOLO DE NAGOYA: ¿CUÁL ES NUESTRA POSICIÓN ACTUAL?**

Roberto Suárez-Alvarez

Laboratorio de Colecciones de Cultivos Microbianos de la ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA), Argentina.  
robertosuarez01@gmail.com

Las “Colecciones de Cultivos Microbianos en Argentina”, en la búsqueda de una entidad que las represente, tienen sus orígenes en la década de los 70s, sin embargo, fue hasta septiembre del año 2000 que la Asociación Argentina de Microbiología (AAM), aprobó la confirmación de la Subcomisión de Colecciones de Cultivos Microbianos (SCCM). Hoy en día la SCCM-AAM, nuclea a 46 Colecciones de once provincias del país y de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Estas colecciones pertenecen tanto a entidades gubernamentales, como universidades nacionales y organismos oficiales como el INTA o CONICET; y a entidades privadas sean estas abiertas o no al público. La mayoría de las Colecciones argentinas conservan bacterias y/o hongos de importancia biomédica, aunque también conservan cultivos de importancia agro-alimentaria, comercial, ecológico-ambiental, dermo-cosmética e industrial. Por el tipo de servicio que prestan las diversas Colecciones, se observa que las mismas pueden ofrecer docencia, investigación básica y aplicada, identificación, preservación y distribución de cultivos, asesoría técnica-industrial y control de calidad. Muchas de las Colecciones argentinas que pertenecen a la SCCM-AAM, también pertenecen a la Federación Latinoamericana de Colecciones de Cultivos Microbianos (FELACC) y algunas también a la Federación Mundial de Colecciones de Cultivos (WFCC por sus siglas en inglés), al menos siete (7) Colecciones pertenecen a las tres instituciones, lo que las homogeniza en diversas estrategias de trabajo y de llevar a cabo sus labores cotidianas en la aplicación de lineamientos generales y Normas de estandarización internacionales.

La SCCM-AAM realiza aproximadamente cada dos años, un “Relevamiento de Colecciones Microbianas en Argentina”, el mismo se lleva a cabo mediante un Formulario que, a través de los años, se ha ido refinando hasta llegar a ser lo que es ahora. El llenado completo del Formulario de cada Colección, nos da el panorama de la realidad que viven hoy nuestras Colecciones. Incluso al evaluar la respuesta al inciso: “¿Conoce las disposiciones del Protocolo de Nagoya?”. Es muy común que el personal de diversas colecciones mencione no conocer el Protocolo de Nagoya o no saber si lo están aplicando acertadamente en sus tareas cotidianas. Es por eso que es necesario que todos sepan que dicho Protocolo pretende abordar el acceso a los recursos genéticos y participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de su utilización en el marco del Convenio sobre la Diversidad Biológica. Todas las naciones tienen soberanía sobre sus recursos. Son éstas, las que deciden la modalidad de acceso y de distribución de los beneficios derivados de la utilización de los recursos genéticos entre personas, instituciones o países. El Protocolo de Nagoya establece un marco legal y se basa en los principios fundamentales de acceso y participación en los beneficios consagrados en el Convenio sobre la Diversidad Biológica. Estos principios se sustentan en que los posibles usuarios de recursos genéticos obtengan el consentimiento fundamentado previo (CFP) del país en que se encuentra el recurso antes de acceder a él, que negocien y acuerden los términos y condiciones del acceso y la utilización del mismo, por medio del establecimiento de condiciones mutuamente acordadas (CMA). Este acuerdo incluye la distribución de los beneficios derivados del uso del recurso con el proveedor como un requisito previo para su acceso y utilización. Para poner todo esto en práctica, Argentina ratificó el Protocolo de Nagoya en diciembre de 2016, el cual se encuentra vigente desde el 9 de marzo de 2017. La Secretaría de Política Ambiental en Recursos Naturales del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Nación, es quien toma en sus manos la autoridad de gestionar su aplicación mediante la Resolución N°. 410/2019, que regula el acceso para la utilización de los recursos genéticos provenientes de la biodiversidad y establece un marco normativo que garantiza la trazabilidad y la participación en los beneficios que se derivan de las actividades biotecnológicas de I+D, así como de las investigaciones científicas con o sin fines comerciales.

# Comunicaciones Orales



**EVALUACIÓN IN VIVO DE *Trichoderma* spp. NATIVOS DE SALTA (ARGENTINA) PARA EL CONTROL DE *Sclerotinia sclerotiorum* EN GARBANZO**

Alicia Zurita (1), Lorena Berruezo (2,3), Guadalupe Mercado Cárdenas (1,2), Verónica Rajal (3,4), Eleonora Harries (1,2,3)

(1) Sede Regional Sur Metán, Universidad Nacional de Salta, Argentina. (2) INTA Estación Experimental Agropecuaria Salta, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (4) Facultad de Ingeniería e Instituto de Investigaciones para la Industria Química, Universidad Nacional de Salta - CONICET, Argentina

\*eleonora.harries@gmail.com

La superficie sembrada y cosechada de garbanzo en la provincia de Salta, Argentina, registró un aumento del 20% en la última campaña 2020. *Sclerotinia sclerotiorum*, causante del Moho Blanco, es una de las enfermedades que provoca importantes pérdidas en la producción del cultivo. Este hongo persiste en el suelo con esclerocios que dificultan su control con productos de síntesis química. El estudio y la aplicación de agentes de control biológico como *Trichoderma* spp. nativo debe ser explorado para generar nuevas propuestas de manejo sanitario.

El objetivo del presente trabajo fue analizar la eficacia del género *Trichoderma* nativo de Salta, Argentina, para el biocontrol de *S. sclerotiorum* en garbanzo. Para ello, se realizaron bioensayos de inoculación controlada en macetas con mantillo conteniendo plantas de garbanzo (30 días post-emergencia). Se inocularon con un disco (0,8 mm) de *S. sclerotiorum* que fue extraído de una colonia crecida por 7 días en Agar Papa Glucosado. Luego, se inoculó con una suspensión de conidios ( $\sim 1 \times 10^7$  conidios/mL) de cada una de las 16 cepas nativas de *Trichoderma* spp. de Salta (T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22). Se incluyeron dos controles: positivo (sólo inoculado con el patógeno) y negativo (sin patógeno ni antagonista). Se planteó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con tres repeticiones (18 tratamientos). A los 21 días post-incubación, se registraron los grados de severidad de la infección del patógeno, altura de planta, diámetro del cuello, peso seco y fresco de las raíces. Los datos se analizaron estadísticamente y se hizo el Test de Tukey para la comparación de medias mediante Software InfoStat 2011.

Se encontraron diferencias altamente significativas para severidad ( $p < 0,0001$ ) entre los distintos tratamientos. La mayoría de las cepas de *Trichoderma* spp. redujeron en un 50% los niveles de severidad comparado con el control positivo (enfermo). Las cepas T18, T12 y T8 mostraron un mejor comportamiento biocontrolador de la infección del patógeno sobre las plantas de garbanzo. Hubo diferenciación significativa en las variables de peso fresco de las raíces ( $p = 0,0009$ ) y altura de plantas ( $p = 0,0058$ ), obteniéndose los mayores valores con la cepa T18.

Estos resultados demuestran la eficacia de poder utilizar la cepa T18 para el control de *S. sclerotiorum* en garbanzo. Se continúa con la evaluación de sus mecanismos de acción antagonista para la elaboración de un bioinsumo a futuro.

## CARACTERIZACIÓN DEL BACTERIOMA INTESTINAL DE LA CHINCHE VERDE (*Nezara viridula*) EN SU INTERACCIÓN CON EL CULTIVO DE SOJA (*Glycine max*)

Bruno E. Rosso (1), Virginia Medina (2), Marcelo Soria (1), Jorge A. Zavala (2,3)\*

(1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Microbiología - Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Bioquímica - Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

\*zavala@agro.uba.ar

Una de las principales plagas de la soja es la chinche verde (*Nezara viridula*), que disminuye los rendimientos del cultivo y produce pérdidas millonarias a nivel mundial. Por su parte, la planta induce defensas químicas contra el ataque de la chinche que pueden disminuir o evitar su daño. Algunos insectos presentan mecanismos que les permiten evadir las defensas químicas de las plantas, por ejemplo, favoreciéndose de la actividad metabólica del microbioma que coloniza su intestino. Recientemente se ha demostrado la presencia de dos géneros bacterianos predominantes en el intestino de la chinche verde: *Yokenella* sp. y *Enterococcus* sp., por métodos de cultivo de microorganismos. La introducción de nuevas tecnologías de secuenciación masiva de ADN nos permite estudiar y analizar con más detalle las comunidades bacterianas de insectos y su dinámica temporal y espacial frente a cambios ambientales. Al momento se desconoce si el bacterioma intestinal participa en la interacción chinche-soja y si varía en el tiempo, afectando la interacción.

En este estudio, describimos el bacterioma intestinal de adultos de *N. viridula* criados en condiciones de laboratorio y recogidos de cultivos de soja. Se comparó la diversidad del bacterioma cuando las chinches se trasladan del laboratorio al campo, para determinar el impacto del entorno natural.

Se secuenciaron y se analizaron las regiones V3-V4 del gen 16S rRNA para caracterizar el bacterioma intestinal de chinches obtenidas de cultivos de soja del centro-este de Argentina y de un cultivo de soja del campo experimental de la Facultad de Agronomía (UBA), donde chinches criadas en laboratorio se alimentaron de la soja durante 20 días. El análisis bioinformático se realizó con QIIME2 y los análisis estadísticos se hicieron con el software RStudio.

Se generaron 66 unidades taxonómicas operativas (OTU's) a partir de 17 muestras de intestino. Entre las OTU's, se identificaron cuatro géneros bacterianos que constituyen más del 97% de todas las secuencias de nuestro conjunto de datos. Tres de ellos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*: principalmente *Yokenella*, *Pantoea* y *Serratia*, y un género de la familia *Acetobacteraceae*: *Neoasaia*, que sólo estuvo presente en los insectos recogidos en el campo. Nuestros resultados muestran que la diversidad y abundancia de los principales géneros bacterianos encontrados en el intestino de *N. viridula* son diferentes entre las chinches de laboratorio y las de campo, pero no se observó divergencia entre los bacteriomas intestinales de las chinches durante su alimentación con soja.

Las bacterias identificadas podrían estar involucradas en los procesos de resistencia de las chinches a las defensas de la soja contra los insectos. Estos resultados resaltan la importancia de entender la relación insecto-bacterioma, que permitirá encontrar microorganismos que facilitan o limitan el ataque de la chinche al cultivo de soja.

**EVALUACIÓN DE LA INHIBICIÓN DE ESPORAS DE *Trichoderma* sp. POR CEPAS DE *Bacillus* sp. Y *Pseudomonas* sp. PARA SU POTENCIAL USO EN BIOCONTROL DE LA ENFERMEDAD DEL MOHO VERDE EN FUNGICULTURA**

Cristian Edgardo Weth (1), María Amelia Cubitto (1, 2)\*

(1) Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida - CERZOS (CONICET/UNS), Bahía Blanca, Argentina. (2) Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina  
\*mcubitto@criba.edu.ar

La rentabilidad del cultivo de gírgolas (*Pleurotus ostreatus*) es afectada por la aparición de mohos oportunistas. La de mayor incidencia es la llamada “enfermedad del moho verde”, provocada por *Trichoderma* spp., que ocasiona importantes pérdidas en la producción. El control químico está desaconsejado debido a la aparición de resistencias en los patógenos, además del riesgo sanitario y ambiental involucrado. Una alternativa es el empleo de microorganismos antagonistas y/o sus metabolitos. En estudios previos se aislaron cepas bacterianas provenientes de sustrato a base cáscara de semilla de girasol utilizado en el cultivo de gírgolas en el sudoeste bonaerense. Los aislamientos denominados B 9.1b, B 9.3 correspondientes a *Bacillus* sp. y PsC, identificado como *Pseudomonas* sp. del grupo fluorescente, se seleccionaron por exhibir una importante actividad inhibitoria frente al crecimiento de *Trichoderma* spp. Tri-CR1 (cepario CERZOS), aislado de un invernadero afectado por la enfermedad; además ninguna de ellas afectó a las cepas de *P. ostreatus* comerciales. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de estos aislamientos en la germinación de las esporas de Tri-CR1, debido a que ellas son el principal factor de diseminación de la enfermedad.

Los ensayos se realizaron en placas de 96 pocillos estériles. Cada pocillo fue cargado con 50  $\mu$ L de la suspensión de  $10^5$  esporas/ mL y 50  $\mu$ L de una suspensión de bacterias ( $10^7$  células/ mL), cultivada en caldo extracto cáscara girasol (CSG) ó 50  $\mu$ L del sobrenadante de cultivo libre de células, obtenidos por filtración con membrana de 0,22  $\mu$ m de poro. Los tratamientos fueron: 1) suspensión de esporas + suspensión bacteriana; 2) suspensión de esporas + filtrados libres de células; 3) suspensión de esporas + caldo CSG estéril (control). Se realizaron 6 réplicas por tratamiento. Las placas se incubaron 8 h a 25 °C. Las esporas germinadas y las no germinadas fueron cuantificadas con una cámara de Neubauer en microscopio light Zeiss Primo Star iLED, equipado con una cámara HD y software MTB. Un conidio se consideró germinado cuando el largo del tubo germinal fue al menos 1,5 veces el diámetro de la espora. Se calculó el porcentaje de esporas germinadas (%SG).

Se observó que el aislamiento B 9.3 fue capaz de inhibir la germinación del 90% de las esporas y que PsC inhibió la germinación del 99%. La cepa B 9.1b no presentó diferencias significativas con los controles ( $p < 0,05$ ). Cuando se aplicó los filtrados libres de células, PsC mostró inhibir el 40% de las esporas, pero no se observaron efectos significativos con los sobrenadantes de B 9.3. La diferencia observada puede deberse a la baja concentración de compuestos en el medio y/o a factores ligados a la superficie celular. Los aislamientos 9.3 y PsC mostraron capacidad de inhibir la germinación de conidios de Tri-CR1 y justifica continuar los estudios para evaluar su aplicación en el sustrato de cultivo de gírgolas a fin de reducir la ocurrencia del moho verde.

## BACTERIAL ENDOPHYTES OF BRASSICA CROPS AS PATHOGENS ANTAGONISTS THROUGH THE PRODUCTION OF ANTIMICROBIAL COMPOUNDS

Martin Andrés Duhalde, Leandro Solmi, Franco Rubén Rossi, Oscar Adolfo Ruiz,  
Andrés Gárriz, Fernando Matías Romero\*

Instituto Tecnológico Chascomús, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas,  
Universidad Nacional de San Martín (INTECH CONICET-UNSAM), Chascomús, Argentina.

\*mromero@intech.gov.ar

Many endophytic bacteria colonize host tissues internally without causing damage, in some cases, they promote plant growth and confer protection against pathogens. One of the mechanisms involved in the later is the production of antimicrobial compounds. This work aimed to characterize bacterial endophytes from different brassica crops, and to analyze their antagonistic properties against phytopathogens.

For the isolation of bacterial endophytes, leaves samples were taken from three brassica crops (cabagge, broccoli and Brussel sprouts) grown in horticulture farms. Leaves from these crops were surface sterilized, homogenized and plated in rich medium. The collection obtained was screened in dual cultures with important pathogens such as *Pectobacterium carotovorum*, *Xanthomonas campestris*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Leptosphaeria maculans*. Also, plant-growth associated traits were tested (phosphate solubilization, indol acetic acid and siderophore production), as well as the production of volatile compounds with antifungal activity. Besides, whole supernatant as well as semi-purified fractions of these isolates were tested for antimicrobial activity. Selected isolates were identified by sequencing the 16S rRNA gene.

A total of 81 endophytes were isolated from the brassica crops. Based on their ability to inhibit different pathogens in dual culture assays or the activation of plant-growth promoting mechanisms, three isolates (Bru13, Bro5 and Bro11) were selected and identified. Bru13 belongs to *Pantoea* genus, closely related to the species *P. agglomerans*. While both, Bro5 and Bro11, belongs to *Bacillus* genus, Bro5 clustered with *B. amyloliquefaciens* and Bro11 with *B. subtilis*. The cell-free supernatant of these isolates inhibited the growth of *P. carotovorum*, *X. campestris*, *S. sclerotiorum* and *L. maculans*. The most drastic effect was observed with the supernatant of Bro5 and Bro11 showing inhibition rates ranging from 40 to 100%. To explore the nature of the antimicrobial compounds, different semi-purifications were performed to obtain peptide, secondary metabolites and lipopeptides fractions. Peptide fractions were the most effective, followed by the secondary metabolites' ones. In turn, the lipopeptide fraction did not show antimicrobial activity. Peptide fractions from Bro5 was the most effective against bacteria and fungi reaching a 100% inhibition. Finally, we evaluated the antifungal activity of volatile compounds produced by these isolates. In this way, all three isolates released volatile compounds that inhibited the growth of *S. sclerotiorum* and *L. maculans* by 50-80%.

In conclusion, the isolates analyzed here exhibit a combination of beneficial traits related to biocontrol and growth promotion activities. Moreover, their ability to release compounds with antimicrobial activity, allow their use as bio-factories to produce new compounds aiming to control plant diseases in a more sustainable way avoiding the use of traditional agrochemicals.

## EVALUACIÓN DE DOS FORMULADOS DE *Pseudomonas pseudoalcaligenes* COMO HERRAMIENTA PARA LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO Y EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD OCASIONADA POR *Meloidogyne* spp. EN PLANTAS DE TOMATE

Daniela Riva<sup>\*</sup>, Catalina Molina, Claudia Ribaudó

Cátedra de Bioquímica, Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*rivadani@agro.uba.ar

Las bacterias PGPRs han sido ampliamente estudiadas por su efectividad en la protección de cultivos frente a adversidades. Existen antecedentes del uso de PGPRs en el control de enfermedades en cultivos de importancia agronómica como el tomate. El nematodo *Meloidogyne* spp., es un endoparásito sedentario, que ha cobrado importancia como patógeno de tomate por su rápida expansión y alta frecuencia de sus infecciones. *Meloidogyne* spp. aprovecha el aumento en la producción de ET (etileno) endógeno en plantas para desarrollar su patogenicidad. En estos casos, la utilización de PGPRs podría ser efectiva en el control de la enfermedad, ya que algunas de estas disminuyen la producción del ET a través de la actividad de la enzima bacteriana ACC desaminasa. Una de las limitantes en la utilización de PGPRs en la protección de cultivos es su estabilidad en el suelo, por lo que surge la necesidad de desarrollar formulados que protejan a la bacteria y permitan su liberación progresiva. El objetivo del presente trabajo fue determinar la efectividad de dos formulados de *Pseudomonas pseudoalcaligenes* en la protección de plantas de tomate contra *Meloidogyne* spp., y evaluar el rol del ET en las defensas inducidas en plantas inoculadas.

Para esto, se determinó *in vitro* la capacidad nematocida de *P. pseudoalcaligenes* sobre *Meloidogyne* spp. a través de recuento de individuos infectivos (J2). Las plantas de tomate (Var. Platense) crecieron sobre un soporte inerte y fueron inoculadas con *P. pseudoalcaligenes* en dos formulados, líquido y sólido, conteniendo  $3 \times 10^7$  UFC/ml, 3 días después de la siembra (DDS). Las plantas infectadas con *Meloidogyne* spp. recibieron una suspensión de 300 J2 y se mantuvieron en cámara de cultivo durante 50 DDS. Se midió el peso fresco y largo de vástagos y raíces en distintos momentos del ciclo de infección. A su vez, se contabilizaron la cantidad de hojas expandidas y se midió el contenido de clorofila. Se evaluó además la producción de ET y se determinó la expresión de los genes *Sl-ACO1*, involucrado en la síntesis de ET, y *Sl-PR1b*, que responde a ET.

Durante la evaluación *in vitro* se observó que *P. pseudoalcaligenes* controló a los nematodos con una eficiencia del 100%. En los ensayos *in vivo*, las plantas inoculadas con los formulados e infectadas, presentaron menos síntomas de la enfermedad, ya que presentaron entre 40-50% de aumento en los parámetros de crecimiento y contenido de clorofila, como así también una reducción del 80% en la presencia de juveniles y huevos. El formulado sólido, resultó ser más efectivo en todos los casos. El aumento en ET registrado en las plantas infectadas coincidió con el aumento en la expresión de *Aco1* y del mensajero de la proteína de patogénesis *PR1b*. Mientras que en las plantas inoculadas previamente con *P. pseudoalcaligenes*, dichos parámetros disminuyeron entre un 20-30%. Estos resultados fueron hallados tanto en el sitio de la infección como en vástagos, lo que estaría involucrando una respuesta sistémica.

## EL MANEJO DEL CULTIVO DE COBERTURA INVERNAL AFECTA EL MICROBIOMA RIZOSFÉRICO DEL CULTIVO SUCESOR *Helianthus annuus* L.

Marianela E. Morales (1)\*, Marco Allegrini (2), Gastón Andrés Iocoli (1,3), Jessica Basualdo (3), María Bonita Villamil (4), María Celina Zabaloy (1,3).

(1) CERZOS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (2) IICAR-CONICET, Zavalla, Argentina. (3) Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. (4) Crop Sciences Department, University of Illinois at Urbana-Champaign, Estados Unidos.

\*marianelamorales28@hotmail.com

Los cultivos de cobertura invernales (CCI), de creciente adopción en el contexto actual productivo, pueden ser finalizados mecánicamente o químicamente, más la información disponible sobre el impacto de ambos métodos sobre el microbioma rizosférico del cultivo sucesor (CS) es escasa o inexistente. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar si los métodos de finalización de avena (*Avena sativa* L.) como CCI afectan la composición de la comunidad bacteriana rizosférica de girasol (*Helianthus annuus*) en el suroeste de la provincia de Buenos Aires.

El ensayo se realizó en parcelas con un diseño en bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones. Dieciséis parcelas se sembraron con avena y cuatro se dejaron en barbecho. El CCI se suprimió mediante acción mecánica (R, rolo faca de tiro manual) o química (DQ, glifosato, 3 l ha<sup>-1</sup>), en tanto en las parcelas en barbecho el control de malezas se realizó con igual dosis de glifosato. A los 13 d postsupresión del CCI se realizó la siembra de girasol, aplicando 30 kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamónico a la mitad de las parcelas roladas (RP), desecadas químicamente (DQP) y a las parcelas en barbecho (BP). Se tomaron muestras de suelo rizosférico en estado vegetativo y se extrajo el ADN con un kit comercial. La secuenciación de la región V4 del ARNr 16S (cebadores 515F/806R) para bacterias se generó mediante la tecnología Illumina MiSeq. El procesamiento de datos y análisis bioinformático se llevó a cabo mediante QIIME2. Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con los datos de la tabla de los *reads* de los ASVs transformados a *centered log-ratio* y clasificada a nivel de género. Los modelos lineales se ajustaron a cada CP utilizando el procedimiento GLIMMIX (SAS).

El ACP mostró que las comunidades bacterianas rizosféricas del CS difirieron significativamente entre plantas RP en comparación con las plantas DQ, DQP, R y BP, a lo largo de la CP1 ( $P < 0,05$ ). El análisis estadístico de la CP2 indicó que el *score* medio fue mayor en BP, R y RP respecto de DQ (con o sin P) ( $P < 0,05$ ). Para la CP3, el *score* medio fue mayor en RP en relación con DQ, DQP y R ( $P < 0,05$ ). Los tratamientos DQ, DQP, BP y R favorecieron a algunos géneros bacterianos antagonistas (*Aeromicrobium*), productores de ácido indolacético (*Niastella*) y que ayudan a la nutrición de las plantas (*Gaiella*) en la rizosfera del CS, mientras que desfavorecieron a los géneros *Novosphingobium* y *Stenotrophomonas*, bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), en relación con RP. Asimismo, el método DQ (con o sin P) favoreció géneros con capacidad de suprimir hongos patógenos (*Chryseolinea*) y degradar carbohidratos (*Sandaracinus*) en la rizosfera del CS, y desfavoreció a bacterias PGPR (*Pseudarthrobacter* y *Hymenobacter*) respecto de R, RP y BP.

Los resultados muestran que la supresión del CCI afecta la composición de la comunidad bacteriana rizosférica del CS debido a la presencia de residuos de raíces y material vegetal en descomposición.

## ESTUDIOS DE DIVERSIDAD MICROBIANA EN SUELOS HORTÍCOLAS DEL PARTIDO DE LUJÁN

Silvana Curieses\*, Pablo Ojeda, Hebe Barrios  
Departamento de Ciencias Básicas- Universidad Nacional de Luján- Luján-Argentina  
\*silvanacurieses@gmail.com

La ciudad de Luján se encuentra dentro del “Cinturón verde de la Provincia de Buenos Aires”. Por esta razón, una de las actividades productivas ampliamente desarrolladas en la región es la horticultura. Los establecimientos hortícolas se caracterizan por cultivar una gran diversidad de especies y por practicar diferentes tipos de manejos agrícolas. La diversidad microbiana de los suelos hortícolas es un condicionante fundamental para la productividad de los suelos, debido a la relevancia de los microorganismos en el ciclado de nutrientes y como indicadores de contaminación en la incorporación de enmiendas orgánicas.

El objetivo de este trabajo es estudiar la diversidad de microorganismos cultivables y determinar las características físico-químicas en suelos hortícolas de la ciudad de Luján.

Se tomaron muestras compuestas de suelos de establecimientos hortícolas de la ciudad de Luján correspondientes a parcelas sembradas con diferentes hortalizas de hoja (acelga y espinaca) y suelo no sometido a actividades agrícolas correspondiente al mismo establecimiento. Se realizó el recuento en placa de bacterias cultivables utilizando agar nutritivo y recuento de hongos en agar papa glucosa con cloranfenicol. Se realizó la detección de microorganismos coliformes como indicadores de contaminación fecal. Por último, se determinaron los parámetros físico-químicos para la caracterización del suelo en estudio.

El análisis de los resultados indican que hay diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en el recuento de microorganismos cultivables. En la muestra correspondiente al cultivo acelga el recuento de bacterias fue de  $1,22 \times 10^{11}$  UFC/gr de suelo, mientras que para el de espinaca resultó ser de  $1,84 \times 10^{12}$  UFC/gr. En el suelo no sometido a actividades agrícolas el recuento fue de  $1,12 \times 10^{12}$  UFC/gr. Se terminó la presencia de hongos en el suelo proveniente del cultivo de espinaca pero no se detectaron en las muestras restantes. El pH de los suelos de cultivos de acelga y espinaca resultó ser 6,3 y 6,5 respectivamente y 6,6 para el suelo no sometido a actividades agrícolas. La conductividad de los suelos de cultivos de acelga y espinaca fue de 156 y 176  $\mu\text{S}/\text{cm}^2$  respectivamente. En tanto el valor para el suelo no cultivado fue de 108  $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ . No se detectó la presencia de microorganismos coliformes en la totalidad de las muestras estudiadas.

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que los cultivos hortícolas inducen aumentos y disminuciones, que dependen del cultivo hortícola estudiado, en el recuento de microorganismos cultivables alterando la diversidad microbiana. También se han observado cambios en los parámetros físico-químicos en los suelos cultivados. Estos cambios podrían llevar a la alteración de los suelos sometidos a la actividad hortícola y sobre todo la posible degradación de los mismos a largo plazo. Es fundamental asesorar a los productores para la adopción de prácticas agrícolas que eviten la pérdida de la diversidad microbiana.

**LA ASOCIACIÓN CON HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES MEJORA EL  
CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Lotus tenuis* EN LA VECINDAD DE PLANTAS  
CONESPECÍFICAS INTENSAMENTE DEFOLIADAS**

Tomás Chippano\*, Ileana García

Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" - CONICET – Ciudad  
Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*tchippano@macn.gov.ar

La generalizada deficiencia de P de los suelos de la Cuenca del Río Salado (Argentina) y la baja presencia de leguminosas en los pastizales limitan la cantidad y calidad forrajera. *Lotus tenuis* es una leguminosa adaptada a los diferentes ambientes de la región pero su lento crecimiento inicial disminuye su habilidad competitiva ante las plantas adultas vecinas. La principal estrategia de *Lotus tenuis* para crecer ante deficiencia de P es la asociación con hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Los HMA interconectan diferentes plantas a través de la red hifal edáfica y pueden modificar el balance competitivo entre especies. El objetivo fue evaluar el rol de los HMA nativos en la interacción entre plántulas de *L. tenuis* y plantas adultas conespecíficas sometidas a diferentes intensidades de defoliación crecidas en un suelo deficiente en P de la Cuenca del Río Salado.

En invernáculo, *L. tenuis* cv. Esmeralda fue cultivada en un Natracuol típico (10,46 mgP.kg<sup>-1</sup> disponible) con (M) y sin (NM) HMA nativos de la Cuenca por 62 días (t0) y defoliadas a diferentes intensidades: 0 (control), 50 y 75%. Después de defoliar, se sembraron 10 plántulas/maceta de *L. tenuis* y se estableció un grupo control sin competencia (plántulas solas). Plantas adultas y plántulas fueron cosechadas luego de 34 días de recuperación (tf=96 días). Se determinó PS acumulado del vástago y PS de raíz de plantas adultas, PS vástago de plántulas, P en tejido, respuesta micorrícica del crecimiento del vástago (RMC) y contenido de P (RMP); y la tasa relativa logarítmica (TRL) para evaluar competencia entre plántulas y plantas. Los resultados se analizaron mediante ANOVA.

El PS del vástago acumulado y radical de las plantas adultas M disminuyó ante el incremento de la intensidad de defoliación mientras que en las NM no fue afectado. La biomasa de las plántulas M aumentó ante el incremento de la intensidad de defoliación de las plantas vecinas y fue máxima sin competencia, mientras que la biomasa de las plántulas NM fue similar independientemente del tratamiento. La RMC y RMP de las plantas adultas fue positiva en todos los tratamientos y disminuyó un 90% y 32%, respectivamente, ante defoliación del 75%. La RMC de las plántulas solo fue positiva cuando crecieron solas (258%). La RMP fue positiva en la vecindad de plantas defoliadas 75% (71%) y cuando crecieron solas (504%). La TRL de las plántulas NM fue cercana a cero independientemente de la intensidad de defoliación de las plantas vecinas (interacción neutra). La TRL de las plántulas M fue negativa ante el incremento de la intensidad de defoliación de las plantas vecinas (interacción competitiva). Concluimos que los HMA, a través del aumento de la absorción de P, modificaron el balance competitivo entre plantas y plántulas de *L. tenuis* en favor de las adultas, independientemente de la intensidad de defoliación, e incrementaron el crecimiento de las plántulas ante el aumento de la intensidad de defoliación de las plantas vecinas.

## HIDROGELES DE QUITOSANO-ALMIDÓN DE GRADO INDUSTRIAL COMO SOPORTES DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL PARA LA FORMULACIÓN Y APLICACIÓN DE INOCULANTES MICROBIANOS

Macarena Fernández (1,2) \*, María Paula Borrajo (1,2), Luciana Anabella Pagnussat (1,2), Jonás Pérez (2), Nora Francois (3), Cecilia Creus (1)

(1) Laboratorio Bioquímica Vegetal y Microbiana, Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP, Balcarce, Argentina. (2) CONICET, Argentina. (3) Facultad de Ingeniería, UBA, Buenos Aires, Argentina.

\*fernandez.macarena@inta.gob.ar

La inmovilización de microorganismos en polímeros biodegradables, constituye una tecnología con potencial uso para la formulación de biofertilizantes de interés agrícola. Las bacterias pueden inmovilizarse en diferentes tipos de materiales incluyendo hidrogeles naturales o sintéticos. Para su escalado a nivel comercial, los materiales deben ser de reducido costo, por lo que se utilizan drogas de grado industrial que pueden contener impurezas que afecten la viabilidad bacteriana, disminuyendo la calidad del inoculante respecto a los obtenidos con drogas pro-análisis. El objetivo de este trabajo fue ajustar la metodología de inmovilización de *A. brasilense* Az39 y *P. fluorescens* ZME4 en forma individual y/o mixta, utilizando matrices poliméricas de quitosano-almidón de grado industrial y analítico e indagar en: a) el efecto del tipo de matriz sobre la supervivencia bacteriana al secado, b) la eficiencia de inmovilización bacteriana y c) la influencia del medio de cultivo bacteriano sobre la inmovilización.

Para la carga de las matrices poliméricas, se obtuvieron variantes naturales resistentes a rifampicina y se seleccionó un clon con resistencia estable para cada una de las cepas (Az39rif y ZME4rif). Se obtuvieron inóculos de ZME4rif en medio Luria Bertani (LB) sin adición de NaCl y Az39rif en medio LB sin NaCl (16 hs-150 rpm) y OAB (20 hs-150 rpm). La carga de la matriz polimérica estéril de grado analítico e industrial se realizó con una o ambas cepas. Las bacterias en las matrices se recuperaron por recuento bacteriano utilizando la técnica de la microgota (UFC/g) a los 7 y 30 días después de la inmovilización. Se calculó la eficiencia de encapsulación  $[\text{UFC/g} / (\text{UFC/mL} \times V (\text{mL}))]$  de Az39 rif y ZME4rif como medida de supervivencia bacteriana al proceso de secado e inmovilización.

Se observó que la eficiencia de encapsulación de ambas cepas fue mayor en inmovilizaciones mixtas respecto a las individuales. Los materiales de grado industrial no afectaron la sobrevivencia de ZME4rif, mientras que la de Az39rif se vio severamente afectada, no obstante, este efecto negativo se revirtió cuando Az39rif se inmovilizó conjuntamente con ZME4rif. La cantidad de bacterias Az39rif viables encapsuladas en las matrices de grado industrial fue mayor cuando el inóculo de carga se realizó a partir de agregados celulares (flóculos) obtenidos en medio OAB. La floculación generó una mayor adaptabilidad bacteriana al estrés propio del proceso de inmovilización y secado. Además, los resultados sugieren que existe una cooperación interespecífica entre Az39rif y ZME4rif que les confiere la capacidad de potenciar su sobrevivencia y adaptarse a condiciones ambientales adversas. En este sentido, la posibilidad de aplicar un hidrogel que contenga más de un género bacteriano proyecta a esta tecnología como una herramienta de uso en el manejo de cultivos agrícolas.

## DISEÑO Y DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA DE POTENCIACIÓN DEL BACULOVIRUS ACMNPV COMO HERRAMIENTA DE CONTROL DE LEPIDÓPTEROS PLAGA

López María Gabriela\*, Barros Gabriela, Alfonso Victoria, Taboga Oscar  
Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (ABIMO) UEDD INTA CONICET CICVyA INTA  
Castelar. Hurlingham, Buenos Aires. Argentina.  
\*lopez.mariag@inta.gob.ar

Los programas de manejo integrado de plagas (MIP) constituyen hoy en día la estrategia más aceptada para intentar reducir el uso de insecticidas químicos. En este marco, los biopesticidas juegan un rol fundamental, complementando y en algunos casos reemplazando a los métodos convencionales de manejo. Dentro de este grupo, los baculovirus se presentan como una opción efectiva y segura, aunque se requiere de trabajos de mejoramiento para poder reducir los tiempos de infectividad y mejorar su competitividad frente a plaguicidas químicos. En ensayos previos demostramos que la proteína GP37 incluida en cuerpos de oclusión de baculovirus recombinantes mejora su infectividad en relación a un baculovirus control, por lo que el objetivo de este trabajo fue explorar el desarrollo de una estrategia combinada para aumentar la infectividad oral del baculovirus AcMNPV mediante la incorporación en sus cuerpos de oclusión de dos proteínas con probados efectos de disrupción de la membrana peritrófica del intestino de las larvas susceptibles: GP37 y quitinasa (ChiA), las que se espera que al actuar *in situ* de manera sinérgica logren optimizar el ingreso de los baculovirus y acelerar la infección primaria.

En primer lugar, se caracterizaron dos baculovirus recombinantes que portan la GP37 de distintas especies de baculovirus como fusión a poliedrina (POLH): AcGP37 y EpapGP37. En una segunda etapa se desarrollaron líneas celulares de insecto Sf9 establemente transformadas con el gen ChiA con y sin la señal de localización nuclear KRKK, regulado por el promotor de POLH inducible por infección y secuencias regulatorias adicionales. La construcción de las líneas Sf9ChiA y Sf9ChiA<sub>KRKK</sub> resultó exitosa y luego de ser infectadas, ambas fueron capaces de expresar las proteínas en altos niveles. Además, fue posible reconocer la presencia de ChiA en muestras de poliedros aislados de infecciones de ambas líneas transgénicas con virus AcMNPV salvajes y baculovirus recombinantes GP37. Los resultados sugieren que la señal de localización nuclear no juega un rol de importancia en los niveles de incorporación de ChiA a los poliedros.

En conclusión, fue posible generar dos nuevos tipos de poliedros recombinantes con el objetivo de potenciar la infectividad de AcMNPV. La originalidad de la estrategia explorada radica en la incorporación de ChiA de forma pasiva en los poliedros, no formando parte de la estructura de POLH, lo que constituye una herramienta de gran valor en la obtención de inóculos de baculovirus salvajes con capacidades mejoradas e incluso en la generación de poliedros dobles recombinantes, lo que podrá enriquecer los programas de MIP.

Como perspectiva, se realizarán bioensayos para evaluar y comparar la efectividad de los inóculos desarrollados en este trabajo y poder definir la mejor estrategia de potenciación de la infectividad de AcMNPV contra lepidópteros plaga.

## DAIRY SLURRY IRRIGATION CHANGES SOIL MICROBIAL ACTIVITY AND FERTILITY IN A FESCUE PASTURE

Gabriela Illarze (1), Rebeca Gonnet (1), Ana Laura Rivero (1), Gimena Arrarte (2), Amabelia del Pino (2), Pilar Irisarri (1)\*.

(1) Laboratorio de Microbiología, Depto. Biología Vegetal, Facultad de Agronomía - Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. (2) Laboratorio de Fertilidad de Suelos, Depto. Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía - Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

\*Irisarri@fagro.edu.uy.

Dairy production has intensified during last years concomitant with higher use of dairy slurries in agricultural soils to improve nutrient recycling. However, there is little information on the response of soil microorganisms and their role in nutrient recycling when dairy slurry with different stabilization time and nutrient composition is applied.

This study evaluated the effects of raw (RDS) and two-lagoons stabilized dairy slurry (LDS) application compared to a non-fertilized (control) and urea fertilization on microbial enzyme activity and functional diversity (BIOLOG EcoPlate), and fertility in soil planted with tall fescue (*Festuca arundinacea* Rhizomat). Plant forage yield and nutrient composition were also evaluated.

The experiment had a randomized block design with three replicates. N fertilizer treatments included annual application equivalent to 200 kg N ha<sup>-1</sup>, and the corresponding amount of slurry was computed based on the total N content of slurry. Treatments were distributed in plots of 12 m<sup>2</sup> in four seasonal applications from August 2019 to September 2020. Consecutive fertilization/harvesting cycles of 45 days, simulating the typical management of forage cut from fescue were performed. Soil core composite samples were collected prior to the beginning of the experiment, and after the annual application of treatments for soil chemical analysis and additionally soil samples were collected before, 7 and 30 days after any fertilizer application for microbial activity analyses. A pasture sample was taken for analyses of dry matter and nutrient contents at each harvest date.

The results showed that dairy slurry applications increased soil Organic matter (OM), Na, K and P. Meanwhile the soils which received RDS applications had greater soil OM content than those receiving LDS, soils that received LDS had greater cation content. Both dairy slurry types showed higher dehydrogenase and phosphatase enzyme activities, respiration, nitrification and N mineralization potentials. BILOG substrate utilization was affected by N-fertilized treatments compared with the control. Forage yield significantly increased with urea treatment compared with dairy slurries. Even though both slurries increased yields compared to control plots. Plant N concentration and uptake was significantly higher in urea fertilized plots. While this parameter was high for LDS application only in September harvest. No difference in P or cations plant content were detected between treatments.

Our study shows that the application of dairy farm slurry can enhance soil microbial metabolic activity in tall fescue swards and that the nutrient input applied may have been the driving force for these positive dairy slurry-induced effects.

**DIVERSIDAD TAXONÓMICA Y FUNCIONAL DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO DEL MICROBIOMA DE GRAMÍNEAS FORRAJERAS PRESENTES EN SUELOS ALCALINOS-SÓDICOS DE LA PAMPA DEPRIMIDA DEL SALADO**

Diana Dip (1)\*, José Otondo (2), Mariano Pistorio (3), Analía Sannazzaro (1), Ma. Julia Estrella (1,4)

(1) IIB-INTECH CONICET - UNSAM, Chascomús, Argentina, (2) INTA-Manantiales, Chascomús, Argentina, (3) IBBM CONICET-UNLP, La Plata, Argentina, (4) CIC.

\*dianadip@intech.gov.ar

En ambientes pobres en fósforo como los bajos alcalino-sódicos de la Pampa Deprimida del Salado, la implantación de especies megatérmicas ha permitido mejorar la estructura y calidad del suelo, aunque la producción forrajera aún requiere una mejora en su calidad nutricional. En este tipo de ambientes, la prospección de microorganismos rizosféricos involucrados en el aporte de nutrientes, podría contribuir al desarrollo de sistemas agro-ganaderos más productivos y sustentables, minimizando el uso de fertilizantes químicos para la producción de pasturas nativas o introducidas. En este trabajo se comparó la diversidad funcional y taxonómica de bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) obtenidas de la rizosfera de dos gramíneas forrajeras que crecen en estos suelos alcalino-sódicos: *Sporobolus indicus* (nativa) y *Panicum coloratum* (introducida). Además, se indagó si existe una relación que vincule la presencia de las funciones evaluadas en las BSF, con su identidad taxonómica.

La solubilización de fosfato se evaluó en medio NBRIP y la producción de sideróforos en medio O-CAS, con y sin condiciones alcalino-sódicas (pH 9; 200 mM de Na<sup>+</sup>). La fijación biológica de N se evaluó en medio NfB y la producción de indoles en TY+ Triptófano. La identidad de los aislamientos se determinó mediante MALDI-TOF MS.

Del total de las BSF se obtuvieron 152 aislamientos (72 de *P. coloratum* y 80 de *S. indicus*) que fijan N en vida libre; 165 (88 de *P. coloratum* y 77 de *S. indicus*) que producen sideróforos en condiciones de estrés y 101 (68 de *P. coloratum* y 33 de *S. indicus*) que producen indoles. De estos, 20 aislamientos provenientes de *P. coloratum* y 10 provenientes de *S. indicus*, presentaron las 4 actividades evaluadas. En la rizosfera de *P. coloratum* se identificó mayor proporción de BSF productoras de indoles que en *S. indicus*. Los aislamientos más abundantes pertenecieron a los géneros *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Enterobacter* y *Citrobacter* y presentaron todas las actividades testeadas, independientemente de la rizosfera de la cual fueron aislados. En los aislamientos del género *Bacillus* se identificaron todas las actividades, excepto la producción de indoles, independientemente de la especie vegetal de origen. Los aislamientos del género *Rahnella*, contaron con todas las actividades testeadas, sólo cuando fueron aislados de la rizosfera de *P. coloratum*. Los aislamientos del género *Leclercia* presentaron mayor cantidad de actividades cuando fueron aislados de la rizosfera de *S. indicus*.

A pesar de la gran diversidad taxonómica encontrada en la comunidad rizosférica de BSF, 4 géneros resultaron ser los más abundantes y comunes a ambas especies vegetales. Las BSF de dichos géneros compartieron otros atributos promotores del crecimiento vegetal. Estos resultados constituyen un valioso aporte para avanzar en futuras evaluaciones enfocadas en la selección de las bacterias que pueden ser candidatas como promotoras del crecimiento de gramíneas en ambientes alcalino-sódicos.

**EL GEN DE LA GLICINA OXIDASA (*thiO*) COMO MARCADOR DE GENOTIPOS DE *Bradyrhizobium* CON POTENCIAL DEGRADADOR DEL HERBICIDA GLIFOSATO EN EL SUELO**

Keren Hernández Guijarro (1)\*, Eduardo de Gerónimo (1,2), Leonardo Erijman (2,3)

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA EEA Balcarce, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular – “Dr Héctor N Torres” (INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

\*hernandez.keren@inta.gob.ar

El estudio de genes marcadores de la degradación del glifosato (GP) en ambientes naturales permite explorar la capacidad microbiana biorremediadora presente en los ecosistemas que contribuye a mitigar el impacto de la aplicación intensiva de este herbicida y la contaminación de las diferentes matrices que ocasiona su uso. Basados en la importancia agronómica del género *Bradyrhizobium* y su versatilidad metabólica, este trabajo puso a prueba la hipótesis que especies o genotipos de *Bradyrhizobium* pueden ser indicadores del potencial degradador del GP en el suelo.

Para ello se diseñaron, a partir de secuencias conocidas del género, un par de cebadores para amplificar una región del gen de la glicina oxidasa (*thiO*), involucrado en la oxidación del GP a ácido aminometilfosfónico (AMPA) y se evaluó la abundancia del gen *thiO* en respuesta a la aplicación del GP, mediante PCR en tiempo real, en suelos con diferentes historiales de exposición al herbicida, tanto en condiciones de campo como de microcosmos. El gen que codifica para la subunidad B de la ARN polimerasa (*rpoB*) fue utilizado como referencia para cuantificar la abundancia de *Bradyrhizobia* totales. La prueba diseñada mostró una alta eficiencia y sensibilidad para un amplio rango de concentraciones del templado. El ensayo a campo mostró respuestas diferenciales de abundancias de *thiO* asociadas al historial de aplicación del herbicida y a los genotipos de *Bradyrhizobium* nativos de cada suelo. En el suelo sin historial, el gen *thiO* aumentó posteriormente a la aplicación del GP y los genotipos detectados se correspondieron con los supergrupos *B. jicamae* y *B. elkanii*. Sin embargo, en el suelo con más de 10 años de uso continuo del GP, *thiO* disminuyó luego de la aplicación y los genotipos mayoritarios correspondieron al supergrupo *B. japonicum*. En el ensayo de microcosmos, la cantidad de herbicida degradado estuvo correlacionada positivamente con el número de copias de *thiO* encontrado en los suelos.

Nuestro estudio sugiere que existen genotipos de *Bradyrhizobium* involucrados en la degradación del GP que pudieran ser explorados para su uso en prácticas agrícolas sostenibles. El gen *thiO* puede ser utilizado como marcador de la dinámica de las poblaciones de *Bradyrhizobia* degradadoras del GP.

## EL SISTEMA DE DOS COMPONENTES ACTJK DE *Ensifer meliloti* ESTÁ INVOLUCRADO EN LA RESISTENCIA A ESTRÉS POR ZINC Y COBRE

Juan Hilario Cafiero, Carolina Vacca, Antonio Lagares, María Florencia Del Papa\*  
Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM), CONICET – UNLP. La Plata, Argentina.  
\*floppy@biol.unlp.edu.ar

*Ensifer meliloti* establece una asociación simbiótica con leguminosas del género *Medicago*, *Melilotus* y *Trigonella*, donde forma nódulos con capacidad de fijar N<sub>2</sub>. Las bacterias utilizan sistemas de dos componentes (TCS) para detectar y adaptarse a las condiciones ambientales. Estudios previos demostraron que el TCS ActJK de *E. meliloti* está involucrado en la tolerancia a estrés ácido y que también participaría en la resistencia a altas concentraciones de zinc y cobre. Estas condiciones adversas pueden ser encontradas por el rizobio tanto en su vida libre como durante la asociación simbiótica. El operón que codifica para ActJK en condiciones de estrés incluye a *degP1* que codifica para una proteasa involucrada en la degradación de proteínas mal plegadas en el periplasma.

El objetivo del presente trabajo fue analizar el rol que cumple ActJK en la adaptación a estrés por metales. En primer lugar, se determinó que el promotor de *degP1* en la cepa salvaje (wt) presenta una inducción dosis-respuesta en concentraciones crecientes de ZnSO<sub>4</sub>, utilizando el medio de cultivo definido SG pH 7,0 y fusiones transcripcionales a GFP. La concentración mínima de Zn<sup>+2</sup> que activó el promotor de *degP1* fue 10 μM. A continuación se evaluó, utilizando la misma metodología, la especificidad de esta inducción analizando el efecto de los siguientes metales: Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn y Al en concentración 10 μM. Únicamente la presencia de Cu<sup>+</sup> o Zn<sup>+2</sup> produjo una activación significativa del promotor de *degP1* en comparación a la condición control (p<0,05). No se encontraron diferencias significativas en el nivel de activación de *degP1* comparando CuCl<sub>2</sub> con CuSO<sub>4</sub> y ZnCl<sub>2</sub> con ZnSO<sub>4</sub>, confirmando que el efecto observado es por la presencia de dichos cationes. Luego, se analizó el rol del regulador ActJ en la activación de su propio promotor y del de *degP1* en estas condiciones de estrés. Se evaluaron en paralelo la cepa wt y Δ*actJ* conteniendo fusiones transcripcionales a GFP. Estos estudios confirmaron que ActJ produce la inducción de *degP1*, dado que se observó un aumento de expresión solo en la cepa wt. No se observó una inducción del promotor de *actJ* en ninguna de las condiciones ensayadas, sugiriendo que la activación del operón *degP1-actJ-actK* en estas condiciones de estrés es principalmente debido al promotor río arriba a *degP1*. Por último, se cultivaron las cepas wt y Δ*actJ* en medio SG pH 7,0 con el agregado de ZnSO<sub>4</sub> o CuSO<sub>4</sub>. Si bien no se encontraron diferencias en los parámetros de crecimiento de ambas cepas en presencia de 10 μM de Zn<sup>+2</sup> o Cu<sup>+</sup> (concentraciones utilizadas en los ensayos de fusiones transcripcionales), a concentraciones mayores a 40 μM de Zn<sup>+2</sup> o Cu<sup>+</sup> se encontró afectado el crecimiento de la cepa Δ*actJ* en comparación a la cepa wt.

Nuestros resultados indican que ActJK está involucrado en la resistencia de *E. meliloti* a estrés por Zn<sup>+2</sup> y Cu<sup>+</sup>, probablemente debido a la inducción de *degP1* y su rol en el mantenimiento de la homeostasis proteica en el periplasma.

***Ralstonia pseudosolanacearum* MODULA LA PATOGENICIDAD EN PLANTAS  
HOSPEDADORAS A TRAVÉS DEL FOTORRECEPTOR DE TIPO LOV**

M. Belén Ripa (1,2), Analía Carrau (1,2), Silvana Petrocelli (2),

M. Victoria Rodríguez (2), Elena G Orellano (1,2)\*

(1) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET-UNR), Rosario, Santa Fe, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Santa Fe, Argentina

\* orellano@ibr-conicet.gov.ar

La luz es una de las señales ambientales más abundantes y es percibida por la mayoría de los seres vivos. Organismos de todos los reinos presentan proteínas fotorreceptoras que les permiten captar las señales lumínicas como un estímulo esencial para la adaptación a las condiciones ambientales cambiantes. *Ralstonia pseudosolanacearum* GMI1000 (*Rpso* GMI1000) es una  $\beta$ -proteobacteria Gram-negativa del suelo que produce la enfermedad conocida como "marchitez bacteriana" en tomates pero también afecta a más de 200 especies de plantas, incluyendo numerosos cultivos de interés agronómico. *Rpso* GMI1000 es un organismo modelo para el estudio de la patogénesis e interacción planta-patógeno. El análisis de la secuencia genómica de *Rpso* GMI1000 ha revelado la presencia de un único gen *Rsp0254*, que presenta homología con los fotorreceptores de luz azul del tipo LOV (luz, oxígeno o voltaje). Reportes previos sugieren que los fotorreceptores bacterianos median las interacciones planta-patógeno, no sólo modulando las respuestas de defensa de la planta sino también regulando la virulencia de los patógenos. Nos proponemos analizar el rol de la proteína LOV de *Rpso* GMI1000, su efecto en la fisiología bacteriana y en la interacción con plantas hospedadoras. Para ello se construyó la cepa *Rpso* $\Delta$ *lov*, deficiente en el gen *Rsp0254*.

Se evaluaron los factores de virulencia tempranos utilizados por *Rpso* en los primeros estadios de la colonización de la planta hospedadora, como motilidad tipo *swimming*, adhesión y producción de *biofilm*, mostrando un aumento en la cepa *Rpso* GMI1000 *wild type* crecida en oscuridad en comparación a los ensayos realizados bajo luz blanca, es decir, que la luz blanca inhibe estos rasgos fisiológicos de *Rpso*. Por otra parte, la cepa *Rpso* $\Delta$ *lov*, presentó atenuados estos fenotipos en ambas condiciones de luz. Durante los ensayos de interacción con plantas hospedadoras de tomate (*Solanum lycopersicum*), se observó que las cepas fueron capaces de colonizar el sistema radicular, mostrando una mayor invasión de los vasos del xilema en plantas de tomate inoculadas con cultivos de *Rpso* GMI1000 crecidos en oscuridad. En cambio, la cepa *Rpso* $\Delta$ *lov* cultivada en ambas condiciones de iluminación colonizó menos el sistema radicular, observándose dispersa por todo el tejido. Por otro lado, se observó que sólo la cepa *Rpso* GMI1000 colonizó la parte aérea de la planta, mostrando una mayor tendencia a la invasión en las secciones transversales de los tallos inoculados con la cepa tipo salvaje cultivada en oscuridad. La cepa mutante *Rpso* $\Delta$ *lov* perdió la capacidad de ascender y colonizar los tallos de las plantas.

Los resultados obtenidos indican que los rasgos relacionados con la patogenicidad bacteriana del fitopatógeno vascular *Rpso* GMI1000, son dependientes de dicho gen y de las condiciones ambientales.

## NODULACIÓN DE PLANTAS DE VICIA SEGÚN CONDICIONES DE SIEMBRA Y DE LA INOCULACIÓN CON RIZOBIOS

María Eugenia Gallace\*, Lucas Dalmasso, Martín Diaz-Zorita  
Facultad de Agronomía de la UNLPam, Santa Rosa, Argentina.  
\*gallace@agro.unlpam.edu.ar

La vicia (*Vicia* spp.) como cultivo de servicio está en creciente expansión en la región pampeana. Para su instalación, sobre residuos de cultivos de verano, se la siembra tanto en el suelo como en cobertura. Como resultado de la exposición de las semillas en la superficie a condiciones estresantes, los resultados en implantación son variables y se desconocen sus efectos sobre la nodulación. En este estudio cuantificamos, en condiciones controladas, los efectos del tipo de siembra de semillas de vicia inoculadas con rizobios sobre la emergencia de plántulas y su nodulación.

El ensayo se desarrolló en macetas con sustrato vermiculita/perlita con riego a demanda con solución nutritiva sin N según 2 factores (i) ubicación de las semillas: (a) en superficie, (b) incorporada 2 cm en el sustrato y (ii) tratamiento de semillas: (a) sin inocular, (b) inoculado, (c) inoculado y con aditivo de protección bacteriana y (d) con aditivo de protección bacteriana. Se utilizó un inoculante líquido conteniendo *Rhizobium leguminosarum* (Nitragin Optimize C®) a razón de 3,0 mL.kg<sup>-1</sup> de semillas y un aditivo protector líquido monofásico conteniendo azúcares y aceites vegetales a razón de 1,4 mL.kg<sup>-1</sup> de semillas (Nitragin BioPower®). A los 5, 10, 15 y 20 días de la siembra se determinó el número de plantas emergidas y luego de 21 días el número de nódulos, el largo y el área de las raíces y la altura de parte aérea. Los datos fueron analizados por ANVA según un modelo factorial y prueba de comparación de diferencias de medias de LSD\_T.

La nodulación varió según ubicación y tratamientos de las semillas con interacciones entre ambos factores. En promedio, al incluir el aditivo en el tratamiento de inoculación la nodulación fue mayor que en su ausencia. La emergencia, tanto a los 5 como a los 20 días desde la siembra, y en ambas ubicaciones de las semillas, fue mayor al aplicar tratamientos de semillas que en su ausencia. En promedio, la nodulación de las plántulas sembradas en profundidad fue 30% superior que al germinar sobre la superficie del sustrato. La longitud de las raíces y la altura de las plántulas fue mayor cuando las semillas se sembraron en profundidad y al inocularlas. La aplicación sólo del aditivo o en combinación con el inoculante no mostró diferencias en estas características en comparación con el control sin inocular o con inoculante. Este estudio valida que la siembra de semillas de vicia en superficie, aún sobre un sustrato húmedo, limita en aproximadamente el 70% la emergencia inicial y en el 25% el logro de la implantación del cultivo. La aplicación de tratamientos de semillas con un inoculante y aditivos no modifica estas diferencias, pero, dentro de cada ubicación de las semillas en relación con el sustrato de cultivo, permite mejorar la proporción de plantas emergidas.

La inclusión del aditivo en el tratamiento de semillas mejoró la nodulación tanto al sembrar en superficie como en profundidad.

## ACTINOBACTERIAS COMO CO-INOCULANTES AUMENTAN EL RENDIMIENTO DE CULTIVO DE SOJA A CAMPO

Mariana Solans (1)\*, Maria Emilia Costanzo (2), Lucas Gallarato (2),  
Gustavo González Anta (2,3), Luis G. Wall (4)

(1) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente - Universidad Nacional del Comahue, CONICET (INIBIOMA - UNCo, CONICET), Bariloche, Argentina. (2) INDRASA, Río Cuarto, Argentina. (3) Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Universidad de San Antonio de Areco (UNSAdeA), Argentina. (4) Universidad Nacional de Quilmes-CONICET, Bernal, Argentina.

\*marianasolans5@gmail.com

Maximizar la capacidad de la simbiosis rizobio-leguminosa permite hacer más efectiva la producción agrícola frente a situaciones de limitaciones ambientales del sistema. El desarrollo de bioinsumos novedosos permitirá disminuir el uso de productos químicos y fertilizantes en la agricultura. La aplicación en semillas de bacterias de la rizósfera competentes y beneficiosas como "auxiliares" capaces de mejorar el rendimiento de leguminosas es una hipótesis de trabajo que merece ser ensayada. Diferentes mecanismos de promoción del crecimiento de las plantas resultan de efectos aditivos o sinérgicos sobre la simbiosis, y por ende sobre el crecimiento y el rendimiento de los cultivos. Las actinobacterias son muy abundantes en los suelos y se caracterizan por la producción de diversos metabolitos secundarios con destacada actividad biológica. Estudios previos mostraron un efecto bioestimulante sobre la nodulación en plantas fijadoras de nitrógeno. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de coinoculación de actinobacterias sobre el crecimiento, nodulación y rendimiento de cultivos de soja, inoculados con *Bradyrhizobium* en ensayos a campo.

Para esto se utilizaron 3 cepas de actinobacterias previamente caracterizadas como bioestimulantes en otras simbiosis fijadoras de nitrógeno: *Actinoplanes* sp. ME3, *Micromonospora* sp. MM18 y *Streptomyces* sp. MM40. Los experimentos se realizaron dentro de un lote de producción en el INTA Pergamino con la variedad DM 40I21 STS IPRO sobre un suelo Argiudol típico, y en INTA Barrow utilizando la variedad SRM3988 Limagrain en un suelo Paleudol petrocálcico. Las dosis inoculadas fueron de 2 ml/kg para el *Bradyrhizobium* sp. y de 3 ml/kg semillas para las actinobacterias, en un diseño experimental de bloques completos al azar con 4 repeticiones, con 5 y 4 tratamientos en las campañas 2019/20 y 2020/21 respectivamente. Pasado el R8 se calculó el rendimiento, la cantidad de granos por unidad de superficie ("número de granos"), y el peso de los granos ("pml"), entre otros parámetros.

En general, se pudo observar un aumento de rendimiento (5%) en las plantas co-inoculadas con las actinobacterias respecto a sus controles, en ambas campañas y suelos. El mayor rendimiento fue de 3711,3 kg/ha en el tratamiento *Bradyrhizobium*+*Actinoplanes* sp. ME3 respecto a *Bradyrhizobium* solo con 3536,3 kg/ha ( $p \leq 0.05$ ) en Pergamino; mientras que en Barrow la combinación de *Bradyrhizobium*+*Micromonospora* sp. MM18 fue significativamente mayor respecto a rhizobium solo, presentando valores de 1932 y 1773 kg/ha respectivamente. Similares efectos de la co-inoculación fueron obtenidos para el número de granos por metro cuadrado y para el tamaño de granos promedio (peso de mil).

Estos resultados muestran que las actinobacterias presentan un gran potencial como nuevos componentes de bioinsumos para el agro.

## DESARROLLO DE BIOFILTROS DE FLUJO VERTICAL PARA EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS UTILIZANDO BACTERIAS PROVENIENTES DE LODOS INDUSTRIALES

Camila Olivera (1,2), Lucía Fattobene (1), Ma. Laura Tondo (1,2), Ma. Sol Herrero (1), Valentina Girardi (1,2), Leonardo M. Pérez (1,2), Lucas M. Salvatierra (1,2)\*

(1) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Ambiental, Química y Biotecnología Aplicada – INGENBIO-, Facultad de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA), Rosario, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, Argentina.

\*lucas\_salvatierra@uca.edu.ar

En su operación, las refinerías de petróleo generan grandes volúmenes de efluentes contaminados con hidrocarburos (HC) que deben ser tratados previamente a ser vertidos. Tradicionalmente, esta problemática ha sido abordada a través de procesos mecánicos, físico químicos y/o tratamientos biológicos en sistemas de lodos activados. Sin embargo, estos métodos suelen ser costosos y muchas veces no consiguen remover completamente estos contaminantes.

El objetivo de este trabajo fue el diseño, desarrollo e implementación de un filtro biológico para el tratamiento de efluentes contaminados con HC, utilizando como inóculo un lodo residual proveniente de una empresa tratadora de residuos agroindustriales. Para estos estudios se usó diésel petroquímico (sin biodiésel) como HC modelo, ya que posee compuestos de cadena larga y alto peso molecular, persistentes en el ambiente. Se diseñaron biofiltros de flujo vertical a escala piloto, cada uno constituido por dos recipientes rellenos con grava entre los que se recirculaba el líquido cada 24 hs. Se trabajó a 22 °C, con una concentración de diésel inicial de 2% v/v. Cada 7 días, se tomaron muestras de grava para análisis de biodegradación, mediante extracción del diésel remanente en hexano y análisis por cromatografía gaseosa. Se realizaron recuentos de microorganismos viables, cada 14 días. El ensayo duró 90 días, período en el cual se realizaron 2 re-inyecciones de diésel, completándose 3 ciclos de degradación de 30 días. Se hicieron extracciones de ADN y secuenciación del gen 16S rARN, a tiempo inicial y al finalizar el 3º ciclo.

Al analizar las velocidades de biodegradación, se vio que la degradación del diésel obedece a una cinética de primer orden, y que en el 2º y 3º ciclo la velocidad disminuyó en un 65 y 83% respecto del 1º ciclo, respectivamente. En el análisis metagenómico, a tiempo final se vio una disminución de los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter*, frecuentemente reportadas como degradadoras de HC. A su vez, se vio un aumento en las abundancias relativas de otros géneros que también podrían estar participando en el consumo del diésel, como son *Immundisolibacter*, *Hydrogenophaga*, *Alcanivorax*, *Parvibaculum* y *Dietzia*, entre otras. También, se llevó a cabo un enfoque PICRUSt para estimar los potenciales de degradación por inferencia metagenómica. A tiempo final, se observó un aumento en la presencia de genes que codifican para la enzima alcano monooxigenasa (*AlkB*) que participa en la degradación de los alcanos de cadena media, como así también de otros genes que participan en la degradación de alcanos (*alkT*, *hpaI*) y compuestos aromáticos (*hmgA*, *hpdD*, *pobA*).

Estos resultados podrían indicar que la disminución de la abundancia relativa de *Pseudomonas* y *Acinetobacter*, podría haber conllevado una disminución de las velocidades de biodegradación del HC. El consumo del diésel logró mantenerse debido al aumento de otros géneros como los especificados previamente, aunque a velocidades menores de degradación.

## ANÁLISIS DE ELEMENTOS INTEGRATIVOS Y CONJUGATIVOS DE TIPO SXT/R391 PRESENTES EN GENOMAS DE BACTERIAS MARINAS

Daniela Pirajan (1)\*, Susana Vázquez (2,3), Cecilia Quiroga (1)

(1) Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (UBA-CONICET), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Biotecnología, Buenos Aires, Argentina. (3) CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Nanobiotecnología NANOBIOTEC, Buenos Aires, Argentina.

\*dpirajan67@gmail.com

Los elementos integrativos y conjugativos (ICE) participan en la transferencia de material genético mediante la conjugación entre bacterias y contribuyen con la diseminación de rasgos benéficos (genes de resistencia a metales, de virulencia, mecanismos de defensa, etc). Existen varias familias de ICEs, siendo SXT/R391 una de las más diseminadas en bacterias de procedencia marina (por ej., *Vibrio* spp.). Los ICE también se encuentran en patógenos bacterianos (por ej., Enterobacterias), facilitando el intercambio de genes entre distintos nichos. Los ICEs SXT/R391 poseen varias regiones conservadas (*xis/int*, *traID*, *traLEKBVA*, *traCFWUN*, *bet/exo*, *traFHG setCDR*) separadas por regiones variables denominadas *hotspot* (HS). Los HS codifican para genes accesorios generalmente beneficiosos para el hospedador. El objetivo de este trabajo fue evaluar la ocurrencia de esta familia de ICEs en bacterias aisladas de diversos reservorios ambientales e identificar los genes benéficos codificados en estas plataformas.

Para ello, se trabajó con 155 ICEs SXT/R391 obtenidos de la base de datos ICEberg 2.0, pertenecientes a los géneros *Actinobacillus* (1; 0.65%), *Alteromonas* (6; 3.87%), *Enterovibrio* (1; 0.65%), *E. coli* (1; 0.65%), *Marinomonas* (3; 1.94%), *Photobacterium* (1; 0.65%), *Proteus* (24; 15.48%), *Providencia* (6; 3.87%), *Pseudoalteromonas* (1; 0.65%), *Shewanella* (4; 2.58%) y *Vibrio* (107; 69.03%). Aunque la mayoría de estos géneros se pueden encontrar en nichos acuáticos, varias bacterias portadoras de ICEs fueron aisladas de muestras clínicas o relacionadas con el hombre (66.45%) y solo el 32.28% provenían de un reservorio ambiental. El análisis comparativo de los ICEs SXT/R391 de 13 muestras ambientales (*Alteromonas*, *Enterovibrio*, *Marinomonas* y *Shewanella*, excluyendo a *Vibrio* que ya fue estudiado) usando MAUVE V2.4.0 y blastN mostró que todas estas plataformas estaban localizadas en el locus *prfC*, lo que refleja una alta conservación de sitio y una elevada especificidad por parte del sistema de recombinación Xis/Int.

El análisis de las regiones HS reveló que los ICEs del género *Alteromonas* poseían genes asociados a recombinación (*tnp*, *int*), genes de defensa (sistemas de restricción y modificación (RM) y toxina/antitoxina (TA)) y operones asociados a la reducción, transporte o eflujo de metales (*mer*, *czc*, Cd-RND). Los sistemas RM y TA fueron también encontrados en los ICEs del género *Shewanella*; mientras que los ICEs del género *Marinomonas* poseían no sólo estos sistemas de defensa sino también genes relacionados con la resistencia a metales como Cu, Zn, Co y Cd. En las inmediaciones de estos genes se encontraron IS, que podrían colaborar con su diseminación.

Nuestro estudio evidencia una relación entre los mecanismos de defensa y los ICEs SXT/R391, que probablemente contribuyen con la supervivencia de bacterias marinas frente a la acción de bacteriófagos. Además, se observa la adaptación de estas bacterias, que adquieren ICEs portadores de genes de resistencia a metales.

## SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA: COMPARATIVA DE METODOLOGÍAS EVOLUTIVAS UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS DE DATOS DE SECUENCIACIÓN PROFUNDA

Misael A. Badenas (1,3), Julieta M. Manrique (1,2,3), Laura I. Giaccardi (1,3), Leandro R. Jones (1,2,3)\*

(1) Laboratorio de Virología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud (FCNyCS), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), Trelew, Chubut, Argentina. (2) Cátedra de Virología, FCNyCS, UNPSJB, Trelew, Chubut, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.  
\* lrj000@gmail.com; ljones@conicet.gov.ar

La complejidad en tiempo y espacio de los estudios evolutivos imponen limitaciones importantes en el análisis de datos de nuevas tecnologías de secuenciación. En este estudio se evaluó el desempeño de cuatro estrategias de alineamiento y dos programas de análisis filogenético con un dataset de 297882 secuencias de alta calidad de muestras de agua del mar argentino.

Para el alineamiento se implementaron dos de los algoritmos del programa MAFFT (refinamiento iterativo con scores calculados del alineamiento global o "*G-INS-I*", y refinamiento iterativo con scores calculados de alineamientos locales o "*L-INS-I*"), aplicados sobre el método progresivo estándar (alineamiento directo, *AD*) o alineamiento taxonómicamente guiado (*ATG*). El *ATG*, desarrollado por nuestro grupo, consiste en alinear las secuencias en forma anidada, avanzando desde los niveles taxonómicos más bajos hacia los superiores, sumando de esta forma información adicional al árbol guía. Los análisis filogenéticos se realizaron con el algoritmo rápido del programa *FastTree* y mediante el método, más intensivo, de *RAxML* (parámetros por defecto). Para cada una de las 8 combinaciones (*ATG/L-INS-I/FastTree*, *ATG/L-INS-I/RAxML*, *ATG/G-INS-I/FastTree*, *ATG/G-INS-I/RAxML*, *AD/L-INS-I/FastTree*, *AD/L-INS-I/RAxML*, *AD/G-INS-I/FastTree*, *AD/G-INS-I/RAxML*), se midieron el tiempo de procesamiento y la calidad de las filogenias obtenidas en cuanto a soporte (*bootstrap*) y recuperación de los taxa presentes en el dataset. Se obtuvieron diferencias en la recuperación de la monofilia cuando se utilizaron los distintos métodos filogenéticos, observándose una mejor recuperación con el programa *FastTree*. Además, *FastTree* insumió tiempos de análisis en el orden de los segundos, mientras que el algoritmo alternativo requirió de 3 a 4 días. La estrategia *L-INS-I* tendió a recuperar más grupos que *G-INS-I*, aunque las diferencias fueron menores. El soporte de ramas, y estadísticos cuantitativos desarrollados en este estudio, mostraron valores superiores para *FastTree*, y valores ligeramente mejores para los análisis en los que se utilizó *ATG*.

En conjunto, estos resultados sugieren una ventaja importante del algoritmo rápido implementado en *FastTree* para el análisis de datasets de esta magnitud y, consistentemente con estudios previos de nuestro grupo, soportan potenciales ventajas en el uso de *ATG + L-INS-I*.

**COMPORTAMIENTO DE LA ATRAZINA EN SUELOS AGRÍCOLAS DE CÓRDOBA Y SU BIORREMEDIACIÓN POR EL AISLAMIENTO NATIVO *Paenarthrobacter ureafaciens* AAC22**

Noelia Urseler (1), Romina Bachetti (1), Verónica Morgante (2,3), Fernanda Biolé (1), Elizabeth Agostini (4), Carolina Morgante (1)\*

(1) IAP de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María. Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agro-Alimentaria y Biotecnológica (IMITAB-CONICET), Villa María, Argentina. (2) Programa Institucional de Fomento a la Investigación, Desarrollo e Innovación. Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago de Chile, Chile. (3) Centro de Investigación en Recursos Naturales y Sustentabilidad (CIRENYS), Universidad Bernardo O'Higgins, Santiago de Chile, Chile. (4) Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud (INBIAS-CONICET), Río Cuarto, Argentina.

\*cmorgante@unvm.edu.ar

La atrazina (AT) es un herbicida s-triazina ampliamente utilizado para el control de malezas en cultivos de maíz y sorgo. Posee elevada persistencia en el ambiente y alto potencial de lixiviar al agua subterránea. La biorremediación microbiana es un mecanismo exitoso para la disipación de este compuesto, resultando necesario profundizar en su estudio para reducir la brecha entre su aplicación in vitro y en el ambiente. Nuestro grupo de investigación cuenta con la bacteria nativa *Paenarthrobacter ureafaciens* AAC22 (N° acceso GenBank: KT591504) degradadora de AT, aislada de agua superficial contaminada. Los objetivos fueron: a) determinar el comportamiento ambiental (adsorción-desorción y lixiviación) de AT en un suelo agrícola de la región centro-sur de Córdoba; b) estudiar la capacidad de biorremediación de AT por AAC22 en microcosmos con suelo agrícola; c) evaluar la toxicidad residual en suelos biorremediados mediante bioensayos con *Avena sativa* L.

Se utilizó suelo agrícola con historial de aplicación de AT. La adsorción-desorción de la AT se determinó mediante la técnica batch equilibrium, mientras que el ensayo de lixiviación se realizó en columnas de suelo disturbado. La biorremediación de AT se evaluó en microcosmos de suelo (250 g) suplementados con AT (100 mg/kg) y bioaumentados con la cepa AAC22 ( $1 \times 10^7$  UFC/g), incluyendo los controles correspondientes. Se determinó el número de microorganismos degradadores de AT (MDA) utilizando el indicador respiratorio 2,3,5-trifenil-2H-cloruro de tetrazolio y la concentración residual de AT mediante electroforesis capilar electrocinética micelar. Las isothermas de adsorción y desorción de la AT fueron bien descritas por la ecuación de Freundlich ( $K_f$  y  $K_{fd}$ ). El  $K_f$  y  $K_{fd}$  se correlacionaron positivamente con el carbono orgánico ( $r=0,97$ ) y negativamente con el pH ( $r=-0,93$ ). En este suelo, el 70,2% de la AT aplicada (2,5 kg/ha) se recuperó en el lixiviado y el 7,6% permaneció en la columna del suelo, indicando un potencial de lixiviación moderado. La mayor concentración de AT lixiviada puede explicarse por la histéresis negativa del herbicida en el suelo. Los microcosmos bioaumentados presentaron una disminución significativa ( $p<0,05$ ) en la concentración de AT después de 2 días de ensayo, acompañado con un incremento en el recuento de MDA. Luego de 8 días, la biodegradación de AT fue total (100%) y se observó una disminución significativa de los MDA ( $p<0,05$ ). En los microcosmos controles (sin AAC22) la concentración de AT permaneció constante, atribuyendo su remoción al aislamiento AAC22. El bioensayo con semillas de avena demostró que el bioaumentado fue exitoso, obteniéndose incrementos en el índice de vigor y de germinación de las plántulas con respecto a los microcosmos control. Por lo tanto, el aislamiento nativo AAC22 promovió la efectiva biodegradación de AT en suelos contaminados, por lo que destaca su posible aplicación en la biorremediación de ambientes contaminados por actividad antrópica.

**CARACTERIZACIÓN DE MICROBIOMAS DEL MUSEO CASA HISTÓRICA DE TUCUMÁN**

Galván FS (1); Alvarado NN (1); Gallardo CA (1); Martínez L (1); D'Arpino MC (1); Oliva AC (2); Barrionuevo C (2); Guerra Orozco MC (2); Albarracín VH (1)\*

(1) Centro de Integral de Microscopia Electrónica (CIME), CCT-CONICET, UNT, Tucumán, Argentina. (2) Museo Casa Histórica de la independencia, Tucumán, Argentina.

\*viralbarracin@gmail.com

El microbioma urbano es la “huella” microbiana particular de una ciudad. San Miguel de Tucumán, ciudad con mayor densidad poblacional del NOA, conserva el patrimonio cultural más importante: el Museo Nacional de la Independencia Casa Histórica, visitado a diario por decenas de personas. La conservación de los bienes culturales es una tarea constante en el Museo para evitar procesos de deterioro en los elementos históricos. La identificación de microorganismos causales de biodeterioro, así como los convivientes que mantienen el equilibrio ecológico, es imperioso para diseñar estrategias de conservación/restauración, además de valer como dato sobre los microbiomas que prevalecen. El objetivo de este trabajo fue estudiar los microorganismos presentes en los elementos históricos del Museo, realizando estudios del microbioma (*biofilm*) *in-situ* y aislamientos de bacterias predominantes en los mismos.

Se tomaron muestras con hisopos y cinta de papel adhesiva de diferentes superficies (sillones y mesa del Salón de Jura, vestimenta de Juan Bautista Alberdi en su niñez) e infraestructura del Museo (ventanas, paredes y puertas). El aislamiento se efectuó en medio LB adicionado con ácido nalidíxico y cicloheximida. La identificación bacteriana se realizó por espectrometría de masas MALDI-TOF VITEK® MS plus (BioMérieux, Francia). De forma paralela, se realizó el análisis de las cintas adhesivas por microscopía electrónica barrido (MEB) Zeiss Supra 55VP (Carl Zeiss NTS GmbH, Germany), a fin de correlacionar datos ultraestructurales/microbiológicos.

Las micrografías revelaron los *biofilms in-situ*. Cocos y bacilos, presentes en diferentes estadios de crecimiento, se agrupaban en pilas o se disponían en capas rodeados de material extracelular. Asimismo, se observaron estructuras filamentosas tubulares que comunicaban célula-célula, probablemente nanotubos, formando una red. A partir del hisopado se aislaron 28 cepas gram-positivas (cocos, bacilos y cocobacilos), identificándose del frente (pared) del Museo *Turicella otitidis*, *Kocuria rosea*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* *Bacillus megaterium*. De la puerta se aislaron *Microbacterium aurum*, *Bacillus altitudinis/pumilus*, *Clostridium subterminale*, *Micrococcus luteus*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*; y de la ventana: *Microbacterium aurum*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus altitudinis/pumilus*. De los elementos históricos se aislaron *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus equorum*, *Bacillus licheniformis* (sillón), *Micrococcus luteus* (mesa de madera), *Actinomyces odontolyticus* (traje JBA).

El conocimiento sobre la variedad de taxas microbianas y la organización/arquitectura de los *biofilms* hallados en diversas superficies es importante para el desarrollo de estrategias preventivas del patrimonio del Museo. Por otra parte, la biodiversidad microbiana demuestra que los lugares urbanos pueden resultar reservorios de especies patógenas y resistentes a antimicrobianos y que por lo tanto merecen un mayor estudio y atención.

## SARS-CoV-2 EN RÍOS DE SALTA: EVALUACIÓN DE SU IMPACTO MEDIANTE ANÁLISIS MULTICRITERIO DE TOMA DE DECISIONES

Juan Martín Mainardi Remis (1,2), Dolores Gutiérrez Cacciabue (1,2), Jorge Emilio Almazán (1,2), Noel Maidana Kulezsa (1,3), Diego Sanguino Jorquera (1,3), Sarita Isabel Reyes (1,3), Milagros Said Adamo (1,3), Hugo Ramiro Poma (1), Héctor Antonio Cristóbal (1,3), Mónica Aparicio González (1), Verónica Beatriz Rajal (1,2)\*

(1) Laboratorio de Aguas y Suelos, Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Salta (UNSa), Salta Argentina. (2) Facultad de Ingeniería, UNSa, Salta, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina

\*vbrajal@gmail.com

La pandemia por COVID-19, además de ocasionar problemas en la salud y cambios en el estilo de vida de las personas, impactó sobre la calidad de ambientes acuáticos naturales. El SARS-CoV-2 llega a ellos a través de aguas residuales vertidas luego de su tratamiento (total o parcial) o sin tratamiento alguno. Para evaluar la calidad de las aguas (en este caso la presencia de SARS-CoV-2), se realizan monitoreos en donde también se miden variables microbiológicas y fisicoquímicas de carácter cuantitativo. Sin embargo, estas variables no siempre son suficientes cuando se desea realizar una apreciación global de la situación.

El objetivo fue evaluar cómo ciertos factores cuantitativos y cualitativos afectan la calidad de ríos de Salta, considerando el impacto por COVID-19. Se aplicó una metodología multicriterio (el Proceso Jerárquico Analítico, AHP) que permite elegir entre distintas alternativas en función de múltiples criterios (y subcriterios), la/s que en mayor medida cumplan con un objetivo definido. Se seleccionaron como alternativas tres ríos monitoreados (julio-diciembre 2020): Arenales (RA), Mojotoro (RM) y La Caldera (RC). A cada uno se los dividió en tres periodos (p): julio-agosto (p1-antes del pico de casos), setiembre-octubre (p2-durante el pico) y noviembre-diciembre (p3-luego del pico), obteniendo un total de 9 alternativas a analizar. Se definieron tres criterios principales con sus respectivos subcriterios: ambientales (subcriterios: índice de calidad del agua (ICA), clima, presencia de animales y algas), antropogénicos (casos de COVID-19, concentración de SARS-CoV-2, usos del agua, presencia de basura y personas) e industriales (vertido de efluentes, presencia de industrias y extracción de áridos). Luego se aplicó el AHP mediante el software *Expert Choice*. Mientras mayor la función objetivo ( $FO=0-0,9$ ), mayor el impacto de los criterios sobre la alternativa analizada, y por consiguiente peor la calidad del agua.

Los criterios que más influyeron sobre el deterioro de los ríos fueron los ambientales ( $FO=0,458$ ) y los antropogénicos ( $FO=0,416$ ). Dentro de los ambientales, el que más pesó fue el ICA calculado con datos de variables fisicoquímicas y microbiológicas, y en los antropogénicos, la concentración de SARS-CoV-2, seguida por el número de casos de COVID-19. Para efectos industriales, el que más influyó fue el vertido de efluentes. Estos ríos reciben descargas de efluentes de industrias aledañas. El ambiente más impactado fue RA en p2 (pico de casos de COVID-19, Set-2020). Este río recibe descargas de efluentes domésticos (algunos tratados y otros no) de la planta de tratamiento sur. RC presentó menor calidad en p2 y RM en p3, ya que existen otros criterios (además de la concentración de SARS-CoV-2), que influyen en su deterioro. En general, el RA presentó siempre la peor calidad comparado con RC y RM. El AHP es una metodología útil para conocer la calidad de los ambientes y favorecer la toma de decisiones para mitigar el impacto.

## SCREENING DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA A CP Y SU METABOLITO TCP EN UN MODELO DE LEVADURAS MARINAS PARA SU APLICACIÓN COMO BIOINDICADORES DE ECOTOXICIDAD Y DEGRADACIÓN

Gustavo E. Echeverri (1,2)\*, Beatriz E. Jaramillo (2), Consuelo Sabater (3), M. Ángeles Castillo (3)

(1) Grupo de Investigación Microbiología y Ambiente, GIMA. Programa de Bacteriología.

Universidad de San Buenaventura, Cartagena, Colombia. (2) Grupo de Investigaciones Agroquímicas, GIA. Programa de Química. Universidad de Cartagena, Cartagena, 130014, Colombia. (3) Departamento de Biotecnología. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia 46022, España.

\*gustavo.echeverri@gmail.com

La bioprospección de levaduras en ambientes marinos es un proceso de gran importancia en la búsqueda de soluciones al problema de contaminación por diferentes sustancias químicas, en donde los insecticidas organofosforados (IOF), presentan gran relevancia por su impacto en ecosistemas acuáticos. El Clorpirifos (CP) y su principal metabolito 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP) es uno de los IOF más utilizados en la agricultura, lo que contribuye a la contaminación marina, afectando organismos en la cadena trófica. Las levaduras, microorganismos eucarióticos unicelulares degradativos, hacen parte de estos ecosistemas y se ven afectados bioquímica y fisiológicamente, pudiendo ser sensibles o resistentes a estos compuestos, permitiendo su aplicación en Ecotoxicología Microbiana y Biotecnología Microbiana Ambiental. Este estudio, se propuso medir el efecto de 10 levaduras marinas aisladas en la Bahía de Cartagena y 2 levaduras de colección, exponiéndolas a concentraciones de CP y TCP (3.9 – 500 mg/L), y viendo la diferenciación a través del indicador de viabilidad medido fluorimétricamente con el colorante vital de Resazurina y clasificándolas en sensibles y resistentes.

Los resultados obtenidos por el porcentaje de viabilidad permitieron diferenciar claramente la variabilidad de sensibilidad y resistencia en un 50 % para cada una (6 levaduras en cada grupo). Las respuestas de las levaduras marinas probadas obtuvieron rangos de sensibilidad (viabilidad baja) frente a CP y TCP de 31.09-87.54 % y 20.71-68.38 % respectivamente, mientras que los rangos de resistencia (viabilidad alta) para CP y TCP fueron de 61.62-84.78 % y 64.37-74.54 %. Al clasificar los rangos de sensibilidad y resistencia de las 12 levaduras en Baja (0-33%), Mediana (34-66%) y Alta (67-100%), se encontró el 16.7 % (Baja), 16.7 % (Mediana) y 66.7 % (Alta) para CP, y 33.3 % (Baja), 50 % (Mediana) y 16.7 % (Alta) para TCP, mientras que la resistencia fue 33.3 % (Mediana) y 66.7 % (Alta) para CP, y para TCP 33.3 % (Mediana) y 66.7 % (Alta). Estos resultados, muestran una clasificación clara de levaduras sensibles y resistentes a CP y TCP, diferenciando rangos diversos, en donde se encontraron las levaduras más sensibles para el CP *Cándida famata* y para el metabolito TCP *Cándida krusei/ incospicua* y *Rhodotorulla minuta*; frente a la resistencia a CP se encontraron las levaduras *Rhodotorulla glutinis*, *Cándida Lipolítica*, *Cándida sp* y *Cándida spherica*, así como las levaduras *Cándida sp*, *Rhodotorulla sp*, *Cándida spherica*, y *Cándida famata* para el metabolito TCP.

La técnica fluorimétrica permitió clasificar levaduras marinas sensibles y resistentes a CP y TCP, pudiendo aumentar los morfotipos del cepario del grupo de investigación y poder aplicarlos en investigaciones para el desarrollo de bioindicadores de efecto y biosensores, así como, en procesos de biodegradación, aplicables a biorremediación de ambientes contaminados con este tipo de insecticidas y sus metabolitos.

**USO DEL BIOFILM PRODUCIDO POR *Bacillus subtilis* PARA FAVORECER EL DESARROLLO DE *Lactuca sativa* EN UN SUSTRATO CONTAMINADO CON COBRE**

Gabriela C. Sarti (1)\*, Josefina A. Cristóbal-Míguez (1), Julieta Yermieff (1), Belén Alegre(1), Antonio Paz-González (2), José A. Curá (3)

(1) Catedra de Química Inorgánica y Analítica. Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires, Argentina. (2) Edafología y Química Agrícola. Facultad de Ciencias. Universidad de A. Coruña. España. (3) Cátedra de Bioquímica. Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires, Argentina.

\*karibu@agro.uba.ar

Las huertas urbanas se desarrollan sobre suelos que presentan características peculiares, como la presencia de capas de distinto origen, pobre estructura y en muchos casos alta concentración de metales pesados. La fitotoxicidad producida por elevados niveles de metales afecta al crecimiento y desarrollo vegetal. Debido a esto, toman relevancia el uso de ciertos grupos microbianos denominados PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), entre los cuáles encontramos al género *Bacillus*. Los objetivos de este trabajo fueron: 1-Evaluar si el biofilm producido por *B. subtilis* aplicado a semillas de *L. sativa* modifica el efecto tóxico producido por la exposición a distintas concentraciones de cobre. 2- Evaluar el efecto promotor del crecimiento sobre *L. sativa* cuando sus semillas fueron inoculadas con el biofilm y las plantas crecieron en un suelo con elevados niveles de cobre.

*B. subtilis* subsp. *spizizenii* creció en condiciones estáticas como biofilm, en la interfase aire/líquido. El biofilm se aplicó a semillas de lechuga, *L. sativa* var. Grand Rapid (B+), y se utilizó un control sin inocular (B-). Las semillas fueron colocadas en Placas de Petri con papeles de filtro adicionados con 0, 50, 100, 150 y 200 ppm Cu(II), se tomaron treinta semillas por tratamiento. Las variables medidas fueron: porcentaje de germinación (G%), largo de raíz (LR) e hipocotilo (LH) y se determinó el Porcentaje de Germinación Relativo (GR%) [semillas germinadas por tratamiento/ germinadas con agua destilada], Elongación Radicular Relativa (E.R%) [LR por tratamiento/ LR en el agua destilada], CE 50 y el Índice de Germinación Porcentual Relativo (I.G%) [(GR%)x(E.R%)/100]. Sobre plantas de 60 días crecidas en un sustrato comercial y compost (3:1) contaminado con 150 ppm Cu(II) extractable se midió: biomasa aérea (BioA) y radicular (BioR).

En el GR% de semillas (B+) y (B-) se observó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) a 200 ppm Cu(II). Con respecto a E.R%: en semillas (B-), a partir de 150 ppm Cu(II) se observaron muy afectadas. Sin embargo, en semillas (B+) fue similar en todas las concentraciones de Cu testeadas. Con respecto a I.G%, las semillas (B-) manifestaron a 150 ppm toxicidad moderada y a 200 ppm alta toxicidad. Sin embargo, las semillas (B+) mantuvieron el status de toxicidad moderada en todas las concentraciones de Cu probadas. Las plantas de lechuga de 60 días mostraron con respecto a (BioA) y (BioR) mayor desarrollo ( $p < 0,05$ ) en plantas cuyas semillas fueron inoculadas con biofilm (BioA:  $580 \pm 30$ mg; BioR:  $50 \pm 3$ mg) con respecto a plantas sin inocular (BioA:  $420 \pm 20$ mg; BioR:  $35 \pm 3,5$  mg).

La aplicación del biofilm producido por *Bacillus* benefició la tolerancia de las semillas a la presencia del metal y fue efectivo como promotor del crecimiento sobre la especie hortícola *Lactuca sativa* var. Río Grande crecida en un sustrato contaminado con cobre.

## DETERMINACIÓN DE LA TOLERANCIA A METALES PESADOS EN LEVADURAS DE SUELO DE LOS BOSQUES ANDINO PATAGÓNICOS ARGENTINOS

Ma. Cecilia Mestre (1,2)\*, Sonia Fontenla (2), Inmaculada García Romera (3)

(1) Instituto Andino Patagónico de Tecnologías Biológicas y Geoambientales, Bariloche, Argentina.

(2) Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Argentina. (3) Estación Experimental del Zaidín, Granada, España.

\*mestremc@comahue-conicet.gob.ar

Estudios previos han puesto en valor el potencial biotecnológico de las levaduras nativas de la Patagonia Argentina. Entre ellas, destacan levaduras importantes para la industria alimenticia, cosmética, agrícola y forestal. La capacidad de las levaduras de tolerar condiciones estresantes de crecimiento (alta salinidad, sequía o elementos tóxicos) se presenta como una estrategia atractiva para el desarrollo de herramientas biotecnológicas. El objetivo del trabajo fue evaluar el crecimiento de levaduras nativas del suelo del Bosque Andino Patagónico, en presencia de metales pesados.

Se estudiaron 31 levaduras (corresponden a 29 especies) utilizando medio de cultivo sólido MYP modificado por la adición de metales y el mismo medio sin metales, como control. Las concentraciones utilizadas (en acuerdo con la Ley 24.051 sobre régimen de desechos peligrosos de la República Argentina) fueron Zn, Al y Pb (1000 y 2000 ppm); Co y Cu (100 y 500 ppm); Cd, As, Hg y Ag (25 y 100 ppm). Se realizó una evaluación cualitativa registrando presencia/ausencia de crecimiento y una evaluación semi-cuantitativa por comparación del diámetro de la colonia en cada metal con respecto al diámetro de la colonia en el medio control.

Todas las levaduras estudiadas crecieron en medios con la menor concentración de Hg. En concentraciones bajas de Cu, Pb o As fueron capaces de crecer 23, 26 y 28 levaduras, respectivamente. Ninguna de las levaduras estudiadas fue capaz de crecer en presencia de Zn, ni en las concentraciones más altas de Co, Cu, Cd o Ag. Sólo 2 levaduras fueron capaces de crecer con 100 ppm de Co, mostrando porcentajes variables de reducción del crecimiento: 36% para *Candida aff. ralunensis* y 78% para *Curvibasidium cygneicollum*. Sólo *C. cygneicollum* fue capaz de crecer con 25 ppm de Ag, con una reducción del crecimiento del 63%. La especie *C. cygneicollum* tuvo el mayor espectro de crecimiento. Las especies *Cyberlindnera rhizosphaerae* y *Ambrosiozyma angophorae* fueron las más sensibles, ya que solo crecieron en el medio con 25 ppm de Hg.

En este trabajo se identificaron especies de levaduras tolerantes a distintos metales pesados. Cabe destacar el potencial como bioindicador de *Cyberlindnera rhizosphaerae*, una levadura descrita originalmente en el bosque Andino Patagónico. De esta forma se visualiza una oportunidad de aprovechar la diversidad de levaduras de la región como indicadores de contaminación y para realizar estudios de remediación y fitoremediación que permitan resolver problemáticas ambientales.

**PRODUCCIÓN DE FERMENTOS: OPTIMIZACIÓN, VALIDACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN MEDIO DE CULTIVO FORMULADO A BASE DE PERMEADO DE SUERO DE QUESO**

Mara E. Batistela (1) \*, Guillermo H. Peralta (1,2), Elisa C. Ale (1), I. Verónica Wolf (1), Erica R. Hynes (1), Carina V. Bergamini (1).

(1) INLAIN-CONICET, Facultad de Ingeniería Química (FIQ-UNL), Santa Fe. (2) Facultad de Ciencias Agrarias (FCA-UNL), Esperanza.

\*batistelamara@gmail.com

En el presente trabajo se optimizó y validó la producción de biomasa de *Lactocaseibacillus rhamnosus* 73 (L73) en un medio de cultivo formulado a partir de permeado de suero de quesería. Además, se evaluó la producción de biomasa de otras cepas de lactobacilos en el medio de cultivo optimizado. Finalmente, se valoró la influencia del control de pH durante el crecimiento de L73 en la producción de biomasa, actividad enzimática, consumo/producción de ácidos orgánicos, y compuestos volátiles. Para la optimización de la producción de biomasa se aplicó un diseño central compuesto, constituido por 21 puntos experimentales. Los cuatro factores estudiados fueron: permeado de suero, extracto de levadura,  $MnSO_4$  y  $MgSO_4$ . La cepa L73 fue inoculada en cada medio al 2% v/v e incubada (37°C, 24h) para luego realizar determinaciones de recuentos microbiológicos en placa (MRS, 37°C, 48h) y densidad óptica ( $DO_{600nm}$ ) como medida de biomasa. Los resultados experimentales se procesaron en el programa Design-Expert® 7.0.0 para asignar modelos matemáticos de ajuste. Mediante el método de superficie de respuesta y la función deseabilidad se hallaron los niveles necesarios de los factores para lograr la mayor biomasa posible. La validación del medio optimizado se realizó por triplicado y además se incluyeron otras 10 cepas de lactobacilos de interés industrial. El impacto del control de pH durante el desarrollo de biomasa de L73 en el medio optimizado se evaluó por triplicado realizando fermentaciones batch de 1L a pH libre y a pH controlado utilizando el equipo Sartorius Biostat A plus. Para ello, el medio de cultivo optimizado se llevó a pH=6,5 y se inoculó la cepa L73 al 2% v/v. El desarrollo se llevó a cabo a 37°C y a pH libre o controlado a pH=6,5 utilizando NaOH 2,3N estéril. Durante el proceso se tomaron muestras a distintos tiempos:  $t_0$  (0hs),  $t_1$ (5hs),  $t_2$ (12hs),  $t_3$ (24hs), en las que se analizaron la  $DO_{600nm}$  y los recuentos microbiológicos en placa (37°C, 24hs). A tiempo final, se determinaron los niveles de carbohidratos y ácidos orgánicos por HPLC y compuestos volátiles por SPME-GC-FID. Finalmente, se determinaron enzimas peptidasas en extractos libres de células obtenidos por disrupción celular.

El modelo seleccionado para cada respuesta reveló un ajuste significativo ( $p < 0,05$ ) y parámetros de falta de ajuste no significativos. Los niveles máximos de biomasa se lograron con los niveles más elevados de permeado de suero y extracto de levadura. La incorporación de  $MnSO_4$  y  $MgSO_4$  no tuvo un impacto significativo. La función deseabilidad permitió obtener la concentración de permeado de suero (12,876 g/100 mL) y extracto de levadura (0,3529 g/100 mL) necesarias para lograr la máxima producción de biomasa de L73. Durante la validación se obtuvieron elevados niveles de L73 (promedio= $2,36 \times 10^9$  ufc/mL) confirmando así la respuesta teórica. Estos resultados fueron similares a los obtenidos en el medio comercial MRS. El recuento para 8 de las otras 10 cepas de lactobacilos estudiadas, también fue alto (entre  $4,47 \times 10^8$  –  $1,70 \times 10^9$  ufc/mL). Por otro lado, mayores niveles de biomasa de la cepa L73 se obtuvieron a pH controlado ( $5,28 \times 10^9$  ufc/mL) en relación al pH libre ( $2,28 \times 10^9$  ufc/mL). El pH de crecimiento no generó cambios significativos en la producción de peptidasas; observándose niveles altos para los cuatro sustratos evaluados. La actividad metabólica fue diferente según el pH del medio: a pH controlado la cepa produjo mayores niveles de ácido láctico, acético y pirúvico y una mayor metabolización de ácido cítrico. Además, metabolizó el ácido hipúrico y produjo ácido benzoico. El perfil de compuestos volátiles de los medios a pH libre y controlados fueron significativamente diferentes al final de la incubación.

En conclusión, el nivel de biomasa obtenido para L73 en el medio de cultivo optimizado responde a los requeridos para su industrialización. El desarrollo de L73 a pH controlado mejoró significativamente la producción de biomasa y la actividad metabólica respecto al pH libre.

## EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOLIXIVIANTE DE DOS CONSORCIOS MICROBIANOS SOBRE MINERAL DEL PROYECTO MINERO TACA TACA, SALTA, ARGENTINA

Francisco L. Massello (1)\*, Agustina Amar (2), Camila Castro (1), Edgardo Donati (1)  
(1) CINDEFI (CONICET, UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina (2) Dpto. de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica, Av. Gral. Paz 1499 B1650KNA, General San Martín, Argentina  
\*massello.f@gmail.com

El proyecto Taca Taca comprende al yacimiento ubicado en el departamento de Los Andes, Salta, Argentina. Se trata de un sistema de pórfido de cobre, oro y molibdeno de tipo andino que comenzó a ser explorado en 1967 y actualmente continúa en fase de exploración por la empresa Corriente Argentina S.A. El depósito Taca Taca será explotado a cielo abierto y se producirán concentrados de cobre/oro y molibdeno por los métodos convencionales de molienda y flotación. Los tratamientos que tradicionalmente se utilizan a continuación para la extracción del metal (hidro- y piro- metalurgia, o lixiviación ácida) poseen un alto impacto ambiental, no sólo por la liberación de compuestos tóxicos, sino por su enorme demanda energética. La biolixiviación es una técnica biotecnológica que utiliza microorganismos (bacterias y arqueas) para la extracción de metales a partir de minerales y se establece como una alternativa sustentable a las metodologías clásicas metalúrgicas. En este trabajo se evaluó la capacidad biolixivante de dos consorcios microbianos sobre muestras de mineral de Taca Taca.

Los consorcios microbianos fueron obtenidos a partir de muestras ambientales de la región volcánica de Caviahue-Copahue, Neuquén, Argentina. Las muestras fueron tomadas en uno de los diversos sitios geotermales de la región llamado Agua de Limón. El *hotspring* muestreado poseía pH 2.08 y temperatura de 44.8°C. Se realizaron cultivos de enriquecimiento seleccionando microorganismos acidófilos azufre y hierro oxidantes en medio MAC incubando a 45°C. Los consorcios obtenidos fueron caracterizados por secuenciación de amplicones del gen 16S ARNr. Dos consorcios fueron elegidos según su composición filogenética para evaluar su capacidad biolixivante: un consorcio dominado por el género de arquea *Ferroplasma* y otro consorcio con gran abundancia de bacterias de los géneros *Acidithiobacillus* y *Bacillus*. La muestra de mineral utilizada, caracterizada por FRX, se componía mayormente de calcosina y contenía 1.14% de Cu, 2.13% de Fe y 2.61% de S. Para el ensayo de biolixiviación se prepararon erlenmeyers con 150 ml de medio MAC a pH 2, 1.5 g de mineral triturado y una concentración final de  $1 \times 10^5$  células/ml. Los sistemas se incubaron a 45°C y 150 rpm, incluyendo un control en el que el inóculo fue reemplazado por paraformaldehído. Cada 24 horas se tomaron muestras para medir valores de pH y ORP, a la vez que se realizaron diluciones en HNO<sub>3</sub> para posteriores determinaciones de hierro total y cobre por espectroscopía de absorción atómica.

Los resultados mostraron que el consorcio compuesto por *Ferroplasma* solubilizó la totalidad de cobre en 7 días, mientras que el otro consorcio lo hizo en 10 días. El control sin inocular mostró que la lixiviación química apenas llegó al 60% tras 14 días. Este trabajo avanza sobre la posibilidad de desarrollar procesos de biolixiviación como alternativa a la metalurgia tradicional para la extracción de metales en el marco del proyecto Taca Taca.

## SOLVING THE *Bacillus cereus* AND *Bacillus thuringiensis* TAXONOMICAL INCOHERENCIES BY GENOME SCALE AND MACHINE LEARNING APPROACHES

Tomás Petitti (1,2)\*, Mariano Alberto Torres Manno (1,2),

Lucas Damian Daurelio (3), Martín Espariz (1,2)

(1) IPROBYQ-CONICET, Rosario, Argentina; (2) FCByF-UNR, Rosario, Argentina; (3) LIFiBVe, ICiAgro Litoral, UNL, CONICET, FCA, Santa Fe, Argentina,

\*petittitomas@gmail.com

El Clado 2 del grupo *Bacillus cereus*, está compuesto por las genomoespecies *Bacillus thuringiensis* y *B. cereus sensu stricto*. Como las genomoespecies son agrupamientos de cepas basados en rasgos genómicos, estos pueden no coincidir con las definiciones de especies basadas en fenotipos. Por ejemplo, la especie *B. thuringiensis* se diferencia de *B. cereus sensu stricto* por su capacidad de producir cristales Cry, los cuales son importantes para la patogenicidad bacteriana contra invertebrados, siendo esta la base de su uso para el control de plagas. Sin embargo, la codificación plasmídica de los genes *cry* dio lugar a inconsistencias taxonómicas que dificultan los estudios comparativos. Con el fin de generar clasificadores que rápidamente permitan asignar la genomoespecie con alta precisión, utilizamos el método de *machine learning* "Random Forest" (RF) para la evaluación de genes marcadores.

Para esto, descargamos 2460 secuencias del grupo *B. cereus* de GenBank, a las cuales se les aplicaron diferentes criterios de calidad para evitar incluir secuencias genómicas incompletas o con imprecisiones. Para lo cual se utilizaron los parámetros de N50, número de contigs y el tamaño total del genoma, obteniendo así 2191 secuencias de buena calidad. Luego, para seleccionar aquellos genomas correspondientes a *B. thuringiensis* y *B. cereus sensu stricto*, se realizó un análisis de Identidad Nucleotídica Promedio (ANI en inglés) contra las cepas tipo *B. thuringiensis* ATCC 10792 y *B. cereus sensu stricto* ATCC 14579, obteniendo 863 secuencias pertenecientes a Clado 2, por otro lado, se verificó la identidad obtenida, a partir de la generación de un árbol filogenético utilizando 104 genes ancestrales comunes, utilizando los *outgroups* *B. anthracis* Ames Ancestor y *B. mycoides* ATCC 6462. Posteriormente, para la generación de clasificadores basados en RF se utilizaron como variables 22 marcadores taxonómicos, tradicionalmente reportados para este clado. Se seleccionó un grupo de entrenamiento de 697 secuencias para generar clasificadores, de diez, cien y mil árboles, para cada uno de los marcadores taxonómicos. Once genes generaron clasificadores que mostraron una precisión y valor kappa de 1 (clasificación perfecta del grupo de entrenamiento). Finalmente, se calculó el error de estos clasificadores sobre el grupo de evaluación. Se comprobó que no había clasificaciones incorrectas indicando que los clasificadores no están sesgados y poseen una precisión observada perfecta.

De esta manera, en este estudio hemos determinado que estos 11 clasificadores permiten establecer la genomoespecie de un aislamiento en estudio de manera rápida y precisa, utilizando solamente la información de un gen marcador. Esta clasificación permitirá realizar estudios de genómica comparativa, siendo este un aspecto central para la comprensión de los distintos comportamientos patológicos de las bacterias del Clado 2 frente a distintos hospedadores, incluyendo el humano.

# Posters



## USO DE BIOFILMS COMO MÉTODO INNOVADOR PARA LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO

Josefina A. Cristóbal-Miguez (1), Gabriela C. Sarti (1)\*, Antonio Paz-González (2),  
Alicia Fabrizio de Iorio (1), José A. Curá (3)

(1) Cátedra de Química Inorgánica y Analítica. Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires. Argentina. (2) Edafología y Química Agrícola. Facultad de Ciencias. Universidad de A. Coruña. España. (3) Cátedra de Bioquímica. Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires. Argentina.

\*karibu@agro.uba.ar

El creciente interés por el consumo de productos orgánicos es parte de una tendencia mundial orientada hacia una mayor preocupación por la calidad de vida de los individuos y del ambiente. Por tal motivo, cobra importancia el uso de bacterias del género *Bacillus* que pueden actuar como biofertilizantes, fitoestimulantes o biopesticidas. De acuerdo a las condiciones de cultivo, las células de *B. subtilis* cambian el modo de crecimiento, de células planctónicas a células no móviles y con desarrollo de biofilm. Los inoculantes convencionales son mayormente formulaciones líquidas cuya principal desventaja es la escasa viabilidad de los microorganismos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de *B. subtilis* como promotor del crecimiento sobre tres variedades de *Lactuca sativa* (lechuga) y comparar la efectividad de dos formas de aplicación de la bacteria: inóculo líquido y biofilm.

*B. subtilis* subsp. *spizizenii* creció en medio líquido (en estado planctónico) en agitación a 150 rpm y como biofilm en condiciones estáticas en la interfase aire/líquido. Las variedades de *L. sativa* utilizadas fueron: Waldman's Green, Crimor y Grand Rapid. Las semillas fueron inoculadas con ambos métodos y se utilizó un control sin inocular, se tomaron treinta semillas por tratamiento. Las variables medidas sobre placas de Petri fueron: porcentaje de germinación (G%), largo de raíz (**LR**) e hipocótilo (**LH**). Sobre plántulas de 25 días crecidas en un sustrato comercial y compost (3:1) se midieron: biomasa aérea (BioA) y radicular (BioR).

Para la variedad Crimor, el G% mostró diferencias significativas entre los tratamientos (mayor al 94%) y el control (80%). En plántulas de 15 días, para las variedades Crimor y Grand Rapid, los **LR** fueron mayores ( $p < 0,05$ ) en semillas inoculadas con biofilm ( $14 \pm 0,8$  mm y  $20 \pm 1,7$  mm, respectivamente), que el inóculo líquido ( $13 \pm 1,2$  mm y  $17 \pm 1,1$  mm, respectivamente) y el control ( $10 \pm 1,4$  mm y  $13 \pm 0,9$  mm). En esas mismas variedades, los **LH** fueron mayores ( $p < 0,05$ ) en semillas inoculadas con biofilm ( $44 \pm 1,7$  mm y  $55 \pm 1,2$  mm, respectivamente), que el inóculo líquido ( $40 \pm 1,8$  mm y  $50 \pm 1,7$  mm, respectivamente) y el control ( $35 \pm 2,3$  mm y  $42 \pm 1,5$  mm, respectivamente).

En las plántulas *L. sativa* var. Crimor, con respecto a (BioA) y (BioR) no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, pero sí con respecto al control. Para la variedad Grand Rapid con respecto a (BioA) y (BioR) se observó un mayor desarrollo ( $p < 0,05$ ) en plántulas de semillas inoculadas con biofilm (BioA:  $200 \pm 20$  mg; BioR:  $12 \pm 1,1$  mg), que con inóculo líquido (BioA:  $150 \pm 14$  mg; BioR:  $8,5 \pm 1,2$  mg), y el control (BioA:  $110 \pm 13$  mg; BioR:  $6,5 \pm 1,2$  mg).

*B. subtilis* subsp. *spizizenii* fue eficaz como promotora del crecimiento en las variedades de *L. sativa* Crimor y Grand Rapid, siendo la aplicación del biofilm más efectiva que la inoculación convencional de la bacteria en medio líquido. Este trabajo destaca la importancia de la incorporación de biofilms como método innovador para la inoculación de PGPRs.

**TRACKING BY CULTURE-DEPENDENT AND -INDEPENDENT TECHNIQUES, AND PLANT-GROWTH-PROMOTION EFFECT OF *Paraburkholderia tropica* MTo-293 APPLIED ON TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.)**

Santiago Adolfo Vio (1), Pamela Bernabeu (1), María Galar (1),  
Juan Manuel Crespo (1), María Flavia Luna (1,2)\*

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI, UNLP, CONICET) La Plata, Argentina. (2) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

\*luna.mafla@gmail.com

The Horticultural Belt of La Plata (CHP, Buenos Aires, Argentina) is one of the main production areas under cover with tomato as the first crop in order of importance. In recent years, the intensification of production has led to an excessive use of fertilizers and pesticides of chemical synthesis which have an undesired impact on food safety, human health and natural resources. Microbial bioinputs based on plant-growth-promoting bacteria (PGPB) have been considered key components of sustainable agriculture since they allow obtaining quality agri-food products adding value at source and reducing chemical use. PGPB exert beneficial effects on plant growth once rhizosphere, superficial or internal tissues (endophytes) have been efficiently colonized.

Tomato cultivation is carried out in two stages: seedling in substrate and productive in soil after transplanting. Seedling transplant is a critical step with a great impact on crop development and yield. Achieving high-quality tomato seedlings is a goal to be pursued by using microbial bioinputs. PGPB adoption in horticulture is still scarce among CHP producers since PGPB applied on productive stage have shown limited success, mainly due to inefficient colonization.

*Paraburkholderia tropica* has been characterized as an endophytic PGPB by *in vitro* and *in vivo* assays in different plants, and qualifies as a promising bacterium for application as bioinput.

Therefore, the aims of this work were the tracking of *P. tropica* MTo-293 Tc<sup>r</sup> throughout time in inoculated plants –at sowing and before transplanting to pots– grown in substrate systems at growth chamber under controlled conditions, using culture-dependent and -independent techniques (nested PCR), and the evaluation of *P. tropica* effect on tomato plants by determining growth parameters on seedling and productive stage.

Growth chamber results showed that:

- P. tropica* was able to efficiently colonize stem and root of tomato plants grown in both substrate systems: surface populations values were 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> CFU g<sup>-1</sup>fw in trays and 10<sup>2</sup>-10<sup>4</sup> CFU g<sup>-1</sup>fw in pots 15 days postinoculation, and at around one order less the endophytic ones.
- Nested PCR could be implemented to track *P. tropica* in populations lower than 10<sup>2</sup> CFU g<sup>-1</sup>fw.
- Root and aerial part dry weight of 40 days seedlings grown in trays was higher in inoculated plants but this increase was only significant for roots (t-Test).
- Biomass dry weight of plants inoculated before transplanting grown in pots was significantly higher than uninoculated and inoculated at sowing, by 25% and 38% for roots and aerial parts, respectively (ANOVA-Tukey).

In greenhouse trials, *P. tropica* increased yields values from the first three harvested trusses: fruit weight per plant increased at about 27.4% and 29.8% in inoculated plants in 2017/18 and 2018/19 seasons, respectively, with significant differences in the last one (ANOVA-Tukey). This work contributes to the adoption of *P. tropica* as bioinput for a sustainable tomato production.

**ANTAGONISMO DE *TRICHODERMA* SPP., NATIVO DE SALTA (ARGENTINA) PARA EL CONTROL DE HONGOS DE SUELO, FITOPATÓGENOS DE LEGUMINOSAS**

Alicia Zurita (1), Lorena Berruezo (2,3), Guadalupe Mercado Cárdenas (1,2),  
Verónica Rajal (3,4), Eleonora Harries (1,2,3)\*

(1) Sede Regional Sur Metán, Universidad Nacional de Salta, Argentina. (2) INTA Estación Experimental Agropecuaria Salta, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (4) Facultad de Ingeniería e Instituto de Investigaciones para la Industria Química, Universidad Nacional de Salta - CONICET, Argentina

\*eleonora.harries@gmail.com

Salta es la provincia que contribuye mayoritariamente con la producción de leguminosas en Argentina. Las enfermedades provocadas por hongos fitopatógenos habitantes del suelo son uno de los principales problemas que afectan sus rendimientos. El uso de *Trichoderma* spp. nativo para el control biológico de estas patologías es una línea de investigación que se sigue en el Laboratorio de Sanidad Vegetal, INTA EEA Salta. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad antagonista del género *Trichoderma* nativo de Salta, Argentina, para el control de distintos hongos fitopatógenos, habitantes del suelo, aislados de leguminosas.

Para ello, se realizaron ensayos *in vitro* de cultivos duales de 16 cepas nativas de *Trichoderma* sp, de Salta (T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22) con tres fitopatógenos: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Se hicieron ensayos independientes con cada patógeno, enfrentándose discos (0,8 mm de diámetro) extraídos de colonias del patógeno y de los antagonistas, en activo crecimiento de 7 días, en Agar Papa Glucosado (APG). Se planteó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con tres repeticiones (17 tratamientos). Se incubaron por 7 a  $25\pm 2$  °C. Se midieron los diámetros de la colonia del patógeno. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del patógeno ( $PIC = (C1 - C2 / C1) \times 100$ ), siendo C1 el crecimiento radial del testigo (crecimiento del patógeno sólo) y C2 el crecimiento radial con el tratamiento. A los 10 días post-incubación, se registró el grado de colonización con la escala de Bell; donde 1: el antagonista cubre por completo la colonia del patógeno y 5: el patógeno avanza sobre *Trichoderma* spp. Los datos se analizaron estadísticamente y se hizo el Test de Tukey para la comparación de medias con el programa InfoStat.

Se encontraron diferencias altamente significativas entre los distintos tratamientos, con  $p=0,0006$  para *S. sclerotiorum*;  $p=0,0012$  para *F. oxysporum* y  $p<0,0001$  para *R. solani*. Las cepas de *Trichoderma* spp. más efectivas que inhibieron más del 50% fueron: T16 y T11 para *S. sclerotiorum*., T16, T9, T18, T13 y T12 para *F. oxysporum* y T19, T9, T22, T21 y T20 para *R. solani*. La mayoría de las cepas presentaron un alto grado de colonización (Grado 1, escala de Bell). Las cepas T9 y T22 inhibieron por completo la formación de esclerocios de *S. sclerotiorum*.

Estos resultados demuestran la existencia de cepas antagonistas de *Trichoderma* spp. nativo promisorias para el control de tres patógenos habitantes del suelo que predominan en leguminosas. Se continúa con la caracterización en ensayos de inoculación *in vivo*.

## INCLUSIÓN DE LEVADURA DE DESCARTE COMO BIOINSUMO EN LA PRODUCCIÓN HORTÍCOLA DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L.)

Fernando A. Andreu Artola (1), Facundo J. Marcos Valle (1)\*, M. Virginia González (1), Jacqueline G. Commatteo (2), Francisco Hernández (1)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias (UNMdP), Balcarce, Argentina. (2) Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS), Balcarce, Argentina.

\*fmarcosvalle@mdp.edu.ar

El Cinturón Hortícola de Mar del Plata (partido de General Pueyrredón, Buenos Aires, Argentina) abarca una superficie de 8.500 ha donde, en los últimos años, se prohibió el uso de agroquímicos. La levadura de descarte (LD) es un subproducto de la industria cervecera, que no ha sido utilizado aún por el sector hortícola de la región, como un bioinsumo. El término bioinsumo alude a los productos elaborados a partir de organismos benéficos tales como bacterias y hongos que pueden ser utilizados en la producción agrícola para promover el crecimiento de los cultivos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar, desde el punto de vista fisicoquímico y microbiológico, la LD de la industria cervecera marplatense y evaluar su aptitud como bioinsumo en la producción hortícola de lechuga (*Lactuca sativa* L.).

Se realizó un ensayo en bloques completos aleatorizados en la Unidad Integrada Balcarce (Buenos Aires, Argentina). En parcelas de 10 m<sup>2</sup> y previo a la implantación del cultivo de lechuga, se aplicaron al suelo, el testigo (T1) y tres dosis de LD: 2.000 l/ha (T2), 4.000 l/ha (T3) y 6.000 l/ha (T4). Se determinaron variables de crecimiento vegetativo como área foliar (AF) y peso fresco aéreo (PFA), rendimiento del cultivo y se analizó tanto la colonización micorrízica arbuscular (CMA) como el contenido de arbusculos (Ar) en raíces de lechuga. Los resultados de las variables determinadas fueron sometidos a análisis de varianzas (ANOVA) y comparación de medias a través del Test de Tukey ( $p < 0,05$ ) del *software* estadístico R. El análisis realizado a la LD registró un pH de 5,50 y una conductividad eléctrica de 4,40 dS/m. La concentración de N y P fue de 1,06% y 1012 ppm, respectivamente. Desde el punto de vista microbiológico, el recuento fúngico total fue de  $8,4 \cdot 10^8$  UFC/mL (pureza de levadura *Saccharomyces cerevisiae* del 98,81% y el resto correspondiendo al hongo filamentoso *Cladosporium cladosporioides*). En este estudio, el rendimiento del cultivo de lechuga con la dosis T3 fue de 23,21 t/ha, significativamente superior al T1 ( $p < 0,05$ ) con un rendimiento de 15,82 t/ha. Al final del ciclo del cultivo (44 días desde el trasplante) las dosis T3 y T4 evidenciaron valores de AF significativamente superior al T1 ( $p < 0,05$ ), registrando valores de 1148,19; 1148,66 y 888,42 cm<sup>2</sup>, respectivamente. La dosis T3 fue la única en evidenciar un PFA (variable relacionada directamente al rendimiento del cultivo) significativamente superior al T1 ( $p < 0,05$ ), 290,13 y 197,70 g, respectivamente. Además, la dosis T3 favoreció la CMA (51,67%) y la presencia de Ar (29,20%), valores significativamente superiores al testigo ( $p < 0,05$ ).

Concluimos que la inclusión de LD, previo a la implantación del cultivo de lechuga, con una aplicación de 4.000 l/ha incrementaría el rendimiento del cultivo permitiendo la obtención de plantas de tamaño comercialmente adecuado, como así también la CMA, permitiendo un manejo más sustentable del suelo.

## INDUCED RESISTANCE AS BIOCONTROL ACTIVITY BY ENDOPHYTIC FUNGI AGAINST PHLOEM-FEEDING INSECTS AND *TRIPS* IN VEGETABLES CROPS

R.D. Menjivar (1,2)\*, A. Alvarado (2), R.A. Sikora (1)

(1) Phytopathology and Nematology in Soil Ecosystems, Institute of Crop Science and Resource Conservation INRES, University of Bonn, Nussallee 9, 53115 Bonn, Germany. (2) Universidad Nacional de Agricultura, Catacamas, Honduras

\*rmenjivar@unag.edu.hn

Nowadays, to produce the food that the population requires is a job that is becoming more complicated every day, from obtaining the monetary resource to acquire the inputs for planting, to implementing expensive technologies that allow guaranteeing the success production, although not always this success can be achieved, due to the instability of our agroecosystems that forces us every day to innovate in order to produce. Suppressing soils have been shown to be able to produce healthier and more vigorous crops, due to their enormous microbial richness, which, as a result of their complex interactions, allow even in the presence of pathogens such as the genera *Fusarium*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Alternaria*, *Radopholus*, *Meloidogyne* among others, these are not expressed above the thresholds permissible by the host, giving stability within their pathozone. The biocontrol activity of the nonpathogenic endophytic fungi as the genus *Fusarium* and *Trichoderma* little is known about the biocontrol potential of this fungus against different phloem-feeding insects and its mode of action.

Therefore, the objective of this investigation was to evaluate the biocontrol activity of *Fusarium* spp. and *Trichoderma* spp. isolates and the capacity to induce resistance in plants against Greenhouse whiteflies (*Trialeurodes vaporariorum*), cotton aphids (*Aphis gossypii*), Green peach aphids (*Myzus persicae*) and *Trips* sp., as an alternative to synthetic compounds.

Results with squash, melon and pepper showed that all the isolates evaluated were able to colonize and remain restricted to the root system. In addition, *Fusarium* spp. isolates treatments affected Greenhouse whiteflies host preference and reduced the development of the two different aphids populations, and both groups of isolates reduced the preference of *Trips* to pepper host. Conversely, application of *Fusarium* spp. filtrates had no effect on aphids after 24 hours of exposure, which suggests that the induced response is not related to fungus-toxin production. However, results of laboratory analysis showed changes in leaf metabolite concentration after endophyte inoculation. This situation demonstrated that even though the fungus was confined to the root system, it was able to induce changes but not new metabolites in leaf composition, affecting the insect's behaviour.

These results show that non-pathogenic endophytic fungi isolates induces plant resistance against phloem-feeding insects and *Trips* through an acropetal interaction.

## EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y POLIFENOLES TOTALES DURANTE LA FERMENTACIÓN ESPONTÁNEA DE BRASICÁCEAS

Romina B. Parada (1,2)\*, Antonela Getili (1), Emilio R. Marguet (1), Marisol Vallejo (1)  
(1) Laboratorio de Biotecnología Bacteriana, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Trelew, Chubut, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) de la República Argentina.

\*parada.ro91@gmail.com

En la actualidad, se observa un mayor interés sobre los beneficios de los polifenoles de las plantas comestibles como antioxidantes. Estudios epidemiológicos sugieren que el consumo a largo plazo de dietas ricas en polifenoles vegetales ofrece cierta protección contra el desarrollo de enfermedades degenerativas asociadas con el estrés oxidativo. Existen evidencias que las dietas ricas en verduras brasicáceas están asociadas a un menor riesgo de varios tipos de cáncer, permitiendo el reconocimiento de estos vegetales como alimentos funcionales. La fermentación láctica es un método de conservación usado desde hace siglos. Sin embargo, recientemente, los alimentos vegetales fermentados han ganado un renovado interés debido a sus múltiples ventajas, como consecuencia del complejo laberinto de rutas metabólicas que poseen las bacterias ácido lácticas (BAL), ejerciendo un beneficio en la salud como su reconocida actividad antioxidante.

Durante este estudio se evaluó el efecto de la fermentación espontánea sobre la actividad antioxidantes y el contenido total de fenoles (CTF) de la salmuera y de los extractos acuosos (EA) y metanólicos (EM) de tres brasicáceas. Se utilizaron para este ensayo akusai, repollo blanco y rojo, suplementados con NaCl al 3% (m/v). La fermentación se realizó durante 30 días a 18 °C y se tomaron muestras de la fase sólida y líquida periódicamente. Además, se realizó el monitoreo de pH y crecimiento de BAL. Las muestras de salmuera se filtraron y conservaron a -18 °C. Las muestras sólidas se secaron y procesaron para realizar los EA (120 °C por 15 min) y EM (35 °C por 3 h), utilizando una dilución 1/10 del solvente correspondiente. El CTF se determinó por el método de Folin-Ciocalteu mientras que, la actividad antioxidante se determinó según el ensayo DPPH y CUPRAC.

Los resultados mostraron que el crecimiento de las BAL fue acompañado con un descenso de pH durante el proceso de fermentación, como consecuencia de la producción de ácidos orgánicos. Las BAL alcanzaron su máximo crecimiento entre el día 5 y 10, donde también se encuentra el mayor descenso de pH. El CTF de la salmuera y de los dos extractos exhibieron un perfil comparable a lo largo del proceso para los tres vegetales. Además, se observó una liberación continua de la fase sólida a la salmuera (fase líquida) durante los primeros 10 días de fermentación. Los métodos DPPH y CUPRAC evaluados en el akusai, repollo blanco y colorado revelaron un fenómeno similar al del CTF. La capacidad antioxidante disminuyó en los extractos y aumentó en la salmuera. Al final de la fermentación, se determinó un marcado aumento de CTF y actividad antioxidante total en repollo rojo a diferencia de akusai que exhibió un ligero aumento, mientras que el repollo blanco mostró una leve disminución.

Estos resultados permiten estudiar la dinámica de los antioxidantes durante la fermentación en las distintas fases (sólida-líquida), en las brasicáceas estudiadas.

***Lactobacillus* spp. AISLADOS DE INTESTINOS DE ABEJAS SIN AGUIJÓN DE LA PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA INHIBEN EL CRECIMIENTO DE *Ascosphaera apis* Y *Aspergillus flavus***

Marcos R. Tejerina (1, 2)\*, María J. Cabana (1), María I. Fonseca (3, 4),  
Marcelo R. Benitez Ahrendts (1, 2)

(1) Universidad Nacional de Jujuy, Facultad de Ciencias Agrarias, Laboratorio de Sanidad Apícola y Meliponícola, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina. (2) Instituto de Ecorregiones Andinas- CONICET, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina. (3) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones "Dra. María Ebe Reza" (INBIOMIS). Laboratorio de Biotecnología Molecular (BIOTECMOL). Misiones, Argentina. (4) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

\*tejerina.marcos@yahoo.com

Las abejas nativas sin aguijón (ANSA) son polinizadores de diversos vegetales que permiten conservar la biodiversidad. En los últimos años productores apícolas de la provincia de Jujuy han iniciado la actividad meliponícola y se ha comenzado a conocer las diversas especies de ANSA que habitan la región. Por otra parte, es importante también conocer los mecanismos que emplean las ANSA para protegerse de patógenos y parásitos que pueden afectar a las colonias, ya que pueden ser transmitidos indirectamente por otras especies de abejas sociales. En la actualidad se investiga la microbiota intestinal de las ANSA que permitirá dilucidar los mecanismos de defensa contra patógenos. *A. apis* y *A. flavus* afectan a larvas *Apis mellifera* y otras especies de abejas y se diseminan en la polinización. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de cepas de *Lactobacillus* spp. aislados de *Scaptotrigona jujuyensis* y *Tetragonisca fiebrigi* de la provincia de Jujuy frente a los hongos *A. apis* P4 (número de acceso a GenBank, KX622166) y *A. flavus*.

Las bacterias fueron aisladas del intestino de *S. jujuyensis* y *T. fiebrigi* en medio MRS líquido y posteriormente sólido, después de la incubación a 37°C en condiciones de microaerofilia durante 48 h, las colonias fueron identificadas por sus características microscópicas y macroscópicas como *Lactobacillus* spp, GRAM positivas, catalasas negativas y seleccionadas por su capacidad de hidrolizar el carbonato de calcio. Las cepas fueron activadas en caldo MRS a 37°C durante 48hs para probar su efecto antifúngico. 100µL de cada una de las cepas activas fue inoculada en Erlenmeyer conteniendo 25 mL con medio líquido MY20, a los que se inoculó una suspensión de  $5 \times 10^6$  ascosporas/mL de *A. apis* P4 (KX622166) todos los ensayos fueron incubados durante 10 días a 30°C. Por otro lado en 25mL de medio líquido extracto de malta se inoculó  $10^5$  conidios/mL de *A. flavus* e incubado a 25°C durante 5 días en agitación. Transcurrido este periodo se secaron y pesaron los micelios crecidos y se determinó la biomasa. Se realizó un control para cada ensayo sin la suspensión de las cepas bacterianas. Cada ensayo fue realizado por cuadruplicado. Los micelios control tenían un peso seco medio de  $3,14 \pm 0,41$  g para *A. apis* y de  $4,42 \pm 0,52$  g para *A. flavus*, mientras que los ensayos con tratamiento con la cepa seleccionada de *Lactobacillus* spp. proveniente de *S. jujuyensis* tenían un peso medio de  $0,53 \pm 0,29$  g para *A. apis* y de  $1,92 \pm 0,60$  g para *A. flavus*, así también los ensayos con tratamiento con la cepa *Lactobacillus* spp. proveniente de *T. fiebrigi* tenían un peso medio de  $0,72 \pm 0,28$  g para *A. apis* y de  $1,08 \pm 0,67$  g para *A. flavus*, con diferencias significativas entre cepas y el grupo control de *A. apis* de  $p < 0,001$  y para *A. flavus* de  $p = 0,001$ . Ambas bacterias inhibieron el crecimiento de los entomopatógenos de *A. mellifera*, estos primeros resultados permitieron conocer que la microbiota intestinal de las ANSA podrían protegerlas de patógenos de otras especies.

**ESTUDIO COMPARATIVO DE MODIFICACIONES INDUCIDAS POR LA INOCULACIÓN CON *Gluconoacetobacter diazotrophicus* EN PLANTAS DE *Arabidopsis thaliana* Col-0 Y MUTANTES *SID2*, EN RELACIÓN AL MECANISMO DE ISR**

María Sol Srebot (1), Julieta Andrea Gallozo (1), María Laura Martínez (1), Analía Carrau (2), Gabriel Roberto Bettucci (1), Matías Daniel Ferretti (1), Elena Graciela Orellano (2)\*, María Victoria Rodríguez (1)\*

(1) Farmacobotánica, Área Biología Vegetal, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. UNR. CONICET. Rosario, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. UNR. IBR-CONICET. Rosario, Argentina.

\*ego.molecular@gmail.com, rodriguezmaria victoria2@gmail.com

*Gluconoacetobacter diazotrophicus* Pal5 (*Gd*) -perteneciente a las PGPBEs- es capaz de colonizar plantas de *Arabidopsis thaliana* Col-0 induciendo cambios morfoanatómicos y fisiológicos. Su estudio es de gran interés ya que algunos de estos efectos pueden relacionarse con la actividad de *Gd* como promotor del crecimiento vegetal e inductor del sistema de defensa de la planta, la ISR (*Induced Systemic Response*). En este estudio se propuso analizar la capacidad de *Gd* de colonizar plantas de *A. thaliana* mutantes *sid2*, evaluar cambios anatómicos producidos tras la inoculación con *Gd*, y realizar un estudio comparativo con los resultados obtenidos en plantas Col-0. Plantas de *A. thaliana* Col-0 y *sid2* se crecieron en tierra fértil en cámara de cultivo a 22-24 °C durante 7 días y se inocularon con 10<sup>6</sup> UFC de *Gd*/g tierra. A los 20 dpi las plantas se extrajeron, se esterilizaron superficialmente, se obtuvieron extractos de raíz y tallo, y se sembraron diluciones seriadas en placas con medio LGI-P suplementado con Cicloheximida y Cloranfenicol. Segmentos de tallo y raíz de plantas 20 dpi *Gd*<sup>+</sup> y *Gd*<sup>-</sup> se incluyeron en parafina y colorearon con safranina – *fast green* y azul de toluidina. Las imágenes de microscopía óptica obtenidas fueron analizadas por software FIJI y los parámetros medidos fueron sometidos a análisis estadístico mediante test de comparación de dos muestras T o Wilcoxon-Mann Whitney, según correspondía.

Plantas *sid2* inoculadas con *Gd* mostraron valores de recuento bacteriano semejantes a los reportados para Col 0 (1,80 ± 0,7) 10<sup>4</sup> UFC/g órgano. Éstas presentaron exomorfología normal y no se manifestaron síntomas de enfermedad frente a la inoculación con el endófito. A diferencia de lo observado previamente en *A. thaliana* Col 0, donde la inoculación con *Gd* provocaba mayor tamaño y lignificación en los vasos xilemáticos, esclerosamiento en epidermis, exodermis, endodermis y periciclo de la raíz principal y mayor cantidad de xilema, lignificación aumentada y parénquima cortical esclerosado en tallo; en las mutantes *sid2* no se evidenciaron esos cambios cualitativos comparando plantas inoculadas y control. El análisis cuantitativo de parámetros microscópicos de plantas Col-0 mostró diferencias significativas ante la inoculación con *Gd* en variables como: área de vasos del xilema en raíz (*Gd*<sup>+</sup>: 202443 ± 69592 y *Gd*<sup>-</sup>: 127289 ± 59383) y tallo (*Gd*<sup>+</sup>:186513 ± 147977 y *Gd*<sup>-</sup>: 89629 ± 72036), área de la raíz, área del cilindro vascular y porcentaje de área ocupado por tejido vascular, mientras que en *sid2* no se observó esa tendencia. *Gd* logra colonizar los tejidos internos de plantas de *A. thaliana sid2* y se establece como endófito; no obstante, la inducción de los cambios bioquímicos y anatómicos observados en las plantas Col-0 inoculadas no se refleja en las mutantes. Este efecto observado en plantas deficientes en síntesis de ácido salicílico, podría señalar la participación de esta hormona en la inducción de la respuesta de plantas a la inoculación con *Gd*.

## ***Bacillus* sp. B9T: INMOVILIZACIÓN EN POLÍMEROS BIODEGRADABLES, VIDA ÚTIL Y EFICACIA DEL INOCULANTE**

María Paula Borrajo (1,2)\*, Macarena Fernández (1,2), Guillermo Maroniche (1,2),  
Jonás Pérez (2,3), Nora Francois (3), Cecilia Creus (1)

(1) Lab Bioquímica Vegetal y Microbiana, Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP, Balcarce, Argentina. (2) CONICET, Argentina. (3) Facultad de Ingeniería, UBA, Buenos Aires, Argentina.

\* mpborrajo@yahoo.com.ar

Los soportes biodegradables formulados a base de mezclas poliméricas compuestas por quitosano y almidón demostraron ser efectivos para inmovilizar *Azospirillum brasilense* Az39 y *Pseudomonas fluorescens* ZME4. Previamente, hemos demostrado que esta tecnología favorece la supervivencia de estas dos rizobacterias en el almacenamiento y su liberación gradual en agua y suelo estéril. Sin embargo, no existen aún experiencias sobre el uso de esta tecnología con PGPRs del género *Bacillus*. Por ello, nos propusimos inmovilizar la cepa biocontroladora *Bacillus* sp. B9T en la matriz polimérica de quitosano/almidón y evaluar su viabilidad durante el almacenamiento. Así como, estudiar la capacidad del inoculante almacenado durante diferentes períodos, para colonizar y establecerse en la raíz y sustrato de plantines de lechuga.

Suspensiones bacterianas obtenidas de cultivos en medio LB se utilizaron para inmovilizar *Bacillus* sp. B9Trif (rifampicina resistente) en la matriz polimérica, a razón de  $10^8$  UFC/g de matriz seca. El inoculante obtenido se almacenó a temperatura y humedad relativa ambiente. Se evaluó la supervivencia de *Bacillus* sp. B9Trif en el inoculante sólido a los 28, 139 y 295 días de almacenamiento (dA). Luego de cada uno de dichos períodos de conservación, se aplicaron junto a las semillas en la siembra de lechuga ( $10^7$  UFC/semilla) y se estudió la eficiencia del inoculante para colonizar y establecerse en la raíz y el sustrato a los 10, 20 y 30 días pos-inoculación (dpi). Los recuentos bacterianos se realizaron con el método de la microgota, en agar papa glucosado suplementado con rifampicina 50  $\mu$ g/ml.

Encontramos que la inmovilización bacteriana finalizó con el secado del soporte polimérico, logrando una carga de  $2,4 \times 10^8$  UFC *Bacillus* sp. B9Trif/ g matriz seca, a los 6 días de iniciado el proceso. La viabilidad del inoculante se mantuvo estable ( $2,4-5,0 \times 10^8$  UFC/ g matriz seca) en todos los períodos de almacenamiento evaluados. La eficacia para colonizar la raíz de lechuga fue similar independientemente del tiempo de almacenamiento del inoculante, manteniendo los títulos de *Bacillus* sp. B9Trif/ g raíz estables durante los 30 dpi. Sin embargo, una pérdida significativa en la capacidad del inoculante para establecerse en el sustrato fue observada a medida que aumenta el período de almacenamiento. En todos los casos, las UFC de *Bacillus* sp. B9Trif / g de sustrato disminuyeron a los 30 dpi.

Los resultados demuestran que la inmovilización de *Bacillus* sp. B9T en matrices poliméricas de quitosano y almidón permite formular inoculantes de alta estabilidad durante almacenamientos prolongados manteniendo su eficacia en la inoculación. Esta tecnología posee gran potencial para la formulación de inoculantes sólidos de diversas PGPR con interés agronómico.

## EFECTO DE LA INOCULACIÓN SOBRE CUATRO VARIEDADES DE MAÍZ (*Zea mays*) CON LAS PGPR *Azospirillum brasilense* Y *Pseudomonas fluorescens*

Jhovana S. Escobar Ortega (1)\*, Noemi N. Aguilar Vásquez(1), Johnny Vera Coca (1), Teresa Ávila Alba(1), Inés E. García de Salamone (2)

(1) Centro Fitotécnico y de Semillas Pairumani, Cochabamba, Bolivia, (2) Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

\*silviafe39@gmail.com

El uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR es una alternativa para favorecer la sustentabilidad de los agroecosistemas. El genotipo vegetal juega un rol muy importante en la interacción con las PGPR inoculadas. Por eso, se planteó el objetivo de estudiar la respuesta a la coinoculación de distintos genotipos de maíz con *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* que son altamente reconocidas por su capacidad PGPR.

Se realizó un ensayo en campo experimental ubicado a 17° 36' Latitud Sur y 66° 33' Longitud Oeste, municipio de Vinto, departamento de Cochabamba, Bolivia, para estudiar el efecto de la coinoculación con las PGPR mencionadas de cuatro variedades bolivianas de maíz con distintas historias de mejoramiento. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar en parcelas divididas, con tres repeticiones. Las variedades se ubicaron en las parcelas principales y fueron Compuesto 20-liberada en los años 80, Choclero 2-liberada en el año 2000 y Compuesto 22-liberada en el año 2016 por el Centro Fitotécnico y de Semillas Pairumani y Waltaco que es un germoplasma nativo-conservado. En las subparcelas se aplicaron los tratamientos control y coinoculación, justo antes de la siembra con 5 ml/Kg de semilla del bioinsumo Rhizoflo Premiun® de Laboratorios CKC Argentina SA, cuya calidad coincidía con las características del marbete. En estado vegetativo (V4-V5) y en floración se evaluó la producción de biomasa y analizó la presencia de la cepa Az 39 de *A. brasilense* incluida en el inoculante, en las comunidades microbianas rizosféricas y asociadas a las raíces, mediante la utilización de un cebador específico tipo SCAR TP5, para su identificación. También se determinó el rendimiento en grano.

Los resultados indicaron que, la biomasa aérea en la etapa vegetativa, no se incrementó por la aplicación de PGPR, pero las variedades difirieron entre sí ( $p \leq 0,05$ ), Compuesto 20 y Waltaco presentaron mayor biomasa respecto a Choclero 2 y Compuesto 22. En cambio, en floración la inoculación incrementó la biomasa de Waltaco, pero esta variedad presentó un rendimiento significativamente menor respecto a Compuesto 20 y Choclero 2, cuyos rendimientos fueron los más altos, pero no respondieron a la coinoculación. Se evidenció el efecto del mejoramiento vegetal sobre la respuesta de las plantas a las PGPR ensayadas. Los análisis moleculares indicaron la ausencia de Az39 en las muestras rizosféricas y de raíz tanto en estado vegetativo como en floración.

Estos datos podrían estar vinculados a la calidad del bioinsumo aplicado y a su efectividad sobre los genotipos ensayados. Por un lado, podría ser necesario controlar la identidad de las cepas aplicadas, pues pueden producirse mutaciones durante la manipulación que impiden encontrarla y que probablemente también haya ocurrido una incapacidad de sobrevivir en el ambiente rizosférico que haya impedido la amplificación requerida para determinar su presencia en las muestras analizadas.

**CONTROL BIOLÓGICO DE *Penicillium expansum* RESISTENTE A FUNGICIDAS SINTÉTICOS**

Matías Cáceres, Yesica Lambrese, Gabriela Sansone, M. Isabel Sanz, Viviana Calvente\*  
Área de Tec. Qca y Biotecnología. Facultad de Qca, Bqca y Fcia. U.N.S.L. San Luis, Argentina.  
\*vcalv@unsl.edu.ar

*Penicillium expansum*, hongo filamentoso que causa podredumbre azul en frutas de pepita, es productor de la micotoxina patulina. Como tratamiento se usan fungicidas sintéticos, pero se reconoce la existencia de cepas resistentes que requerirían usar mayores cantidades de estos; el control biológico, usando microorganismos saprofitos antagonistas que compitan efectivamente con el patógeno es una alternativa de control. El objetivo fue estudiar 3 Agentes de Control Biológico (ACB) para controlar la podredumbre azul de *Penicillium expansum* INTA10 resistente a fungicidas comerciales de uso en nuestro país.

Los microorganismos empleados fueron *P. expansum* INTA10 aislado de podredumbre y caracterizado como productor de patulina y los ACB: *Kosakonia radicincitans*, *Cryptococcus laurentii* y *Rhodosporidium fluviale*, aislados de manzanas, e identificados molecularmente. Inicialmente fue seleccionado el fitopatógeno entre 10 cepas de *Penicillium* spp desafiándolas contra 5 fungicidas de uso en Argentina. Se utilizaron placas de Petri con medio Agar Papa Dextrosa (APD) inoculadas con una suspensión del hongo, luego se realizaron horadaciones que se rellenaron con cada fungicida (CAPTAN50WP, TECTO®50SC, PENBOTEC®400SC, SCHOLAR®23SC, CARBENDAZIM50SC) a la dosis empleada en tratamientos de postcosecha. Se incubaron a 25 °C y se determinaron Halos de Inhibición del Crecimiento Micelial (cm), a los 3 y 7 días. Los ensayos de biocontrol *in vitro* se realizaron en placas con medio APD inoculadas con el ACB y el fitopatógeno e incubadas a 25 °C, determinándose % Inhibición del Crecimiento Micelial a los 7 días. Para el biocontrol *in vivo* manzanas *Red delicious*, fueron heridas artificialmente, inoculadas con antagonista-patógeno e incubadas a 25 °C, 10 días. Se midieron los diámetros de podredumbre ( $\emptyset$ ) del control y tratamiento y los resultados se expresaron como % Incidencia de Enfermedad (%IE:[(heridas podridas en tratamiento/heridas podridas en control]x100) y % Reducción de Severidad (%RS:[( $\emptyset$  control -  $\emptyset$  tratamiento)/ $\emptyset$  control]x100) a los 5 y 10 días. Al finalizar el ensayo se extrajo todo el tejido podrido (control y tratamientos), se pesó en balanza analítica y se calculó %RS. *P. expansum* INTA10 creció con TECTO y CARBENDAZIM, presentó halos de inhibición con PENBOTEC (2,1 cm en 3 días) y con CAPTAN (1 y 0,5 cm), y SCHOLAR (1,8 y 1 cm) a los 3 y 7 días respectivamente. Los ensayos de biocontrol mostraron 90%, 60% y 30% de inhibición del crecimiento micelial por *K. radicincitans*, *C. laurentii* y *R. fluviale* respectivamente. En manzanas los 3 ACB biocontrolaron la podredumbre azul. A los 5 días: para *K. radicincitans* la IE fue del 20%, la RS del 76% y algo menores con los otros 2 ACB. A los 10 días los % de IE aumentaron mientras el % RS para *K. radicincitans* se mantuvo al 76 % y cercanos al 40% los otros ACB. Finalmente, considerando el tejido podrido resultó: %RS= 81% para *K. radicincitans* y para *C. laurentii* y *R. fluviale* del 55%.

Se concluye que la implementación de ACB es una muy buena alternativa para controlar *P. expansum* resistente a fungicidas.

## EFFECTO DEL INCREMENTO DE LA DISPONIBILIDAD DE P SOBRE LA INFECTIVIDAD DEL INÓCULO DE HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES NATIVOS DE UN SUELO DE LA CUENCA DEL RÍO SALADO

Tomás Chippano\*, Ileana García

Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"- CONICET – Ciudad Autónoma de Buenos Aires

\*tchippano@macn.gov.ar

La principal herramienta para incrementar la producción forrajera en suelos deficientes en P de la Cuenca del Río Salado es el aumento de la disponibilidad de P a través de la fertilización. Sin embargo, este incremento significativo del P disponible actúa en detrimento de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), disminuyendo la colonización radical y la infectividad del inóculo en el suelo. Estudios previos indican que dosis bajas de fertilizante P, que conllevan aumentos moderados de la disponibilidad de P, podrían incrementar la producción de biomasa y conservar la infectividad del inóculo HMA. El objetivo fue evaluar el efecto del incremento moderado de la disponibilidad de P sobre la infectividad del inóculo MA nativo de un suelo deficiente en P de la Cuenca.

En invernáculo, se realizó un bio-ensayo para estimar la infectividad del inóculo HMA de un Natracuol típico ( $6,7 \text{ mgP.kg}^{-1}$  disponible) a través de la colonización radical en plantas de *Lotus tenuis* cv. Esmeralda. Se evaluaron 6 concentraciones de suelo como inóculo: 1, 5, 10, 20, 30 y 100 g/100g SS que contenían 4, 20, 40, 79, 119 y 397 esporas viables/maceta, respectivamente. El sustrato diluyente fue el mismo suelo esterilizado. Un grupo de macetas de cada concentración se fertilizó con una dosis baja de P ( $15 \text{ mgP.kg}^{-1}$  como  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) que corresponde a  $10\text{-}20 \text{ mg.kg}^{-1}$  P disponible. Según estudio previo, dicho rango permite aumentar la producción forrajera y conservar a la colonización HMA. Luego de 20 DDS se cosechó el material vegetal, se determinó PS del vástago y PF radical. Se calculó el porcentaje de plantas colonizadas como la cantidad de plantas con al menos un punto de inicio de la colonización de HMA en sus raíces/total de plantas por maceta. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA. La infectividad del inóculo HMA se estimó a través de ajustes de regresiones no lineales para cada uno de los casos:  $-/+P$ . El porcentaje de plantas colonizadas aumentó ante el incremento de la cantidad de esporas viables en cada concentración de suelo  $-/+P$ . Las raíces de *L. tenuis* no presentaron colonización ante 4 y 20 esporas viables/maceta  $-/+P$ . El aumento de la disponibilidad de P disminuyó 3 veces el porcentaje de plantas colonizadas con 40 esporas viables/maceta, y no hubo diferencias entre 79, 119 y 397 esporas viables/maceta  $-/+P$ . La biomasa aérea disminuyó ante el incremento de la cantidad de esporas viables/maceta  $+P$ , y no hubo diferencias entre las concentraciones  $-P$ . La biomasa radical aumentó ante  $+P$  y no se observaron diferencias entre las distintas concentraciones  $-/+P$ .

Concluimos que la dosis de P aplicada, que permitió situarse dentro del rango  $10\text{-}20 \text{ mgP.kg}^{-1}$  disponible, resultó conservativa de la colonización HMA, ya que solo afectó la infectividad cuando la cantidad de esporas viables/maceta disminuyó a 40, mientras que con mayor cantidad de esporas viables/maceta la colonización no fue afectada.

## PRODUCCIÓN DE *Kosakonia radicincitans* A PARTIR DE BAGAZO DE CERVEZA Y CONSERVACIÓN MEDIANTE ENCAPSULACIÓN EN ALGINATO

Paola Possetto\*, Yesica Lambrese, Gastón Navarta, Juan Calvo,  
M. Gabriela Sansone, Viviana Calvente  
Facultad de Química Bioquímica y Farmacia - U.N.S.L. San Luis (Argentina).  
\*papossetto@unsl.edu.ar

Las aplicaciones biotecnológicas (promoción de crecimiento y biocontrol) de *K. radicincitans* fueron analizadas en trabajos anteriores. Por este motivo, surge la necesidad de desarrollar un medio de cultivo sustentable para su producción a gran escala y una forma económica y segura de conservación de la cepa. El aumento de cervecerías artesanales permite contar con un subproducto, como el bagazo. Este desecho de la elaboración de cerveza, puede ser reutilizado para producir *K. radicincitans*, en este sentido se buscan alternativas para la producción y consumo (economía circular).

Objetivo: examinar la conservación de *Kosakonia radicincitans* a largo plazo en alginato como soporte, para su posterior producción en bagazo de cerveza. La bacteria fue conservada 20 meses en encapsulado de alginato. Luego fue resuspendida y sembrada en medio de cultivo adecuado para crecimiento: YGM (Levadura: 5g/L, Glucosa: 10g/L, agar: 20g/L). A partir del mismo, se constituyó el inóculo para sembrar en los diferentes medios a ensayar. Para la preparación del medio de cultivo se utilizó bagazo y agua destilada, inicialmente se trituró el bagazo para liberar los azúcares remanentes, se filtró y finalmente se esterilizó. Para formular el medio de cultivo se probaron tres variantes: el primero con el agregado de 5g/L de extracto de levadura comercial (a), el segundo sin la adición de sustrato alguno (b) y el tercero se preparó con el agregado de 5g/L de levadura deshidratada proveniente del descarte de la industria cervecera artesanal -alternativa económica de enriquecer el medio de cultivo- (c) Se utilizó como control, un medio base preparado a partir de componentes comerciales (Levadura: 5g/L, Glucosa: 10g/L) (d). Se estandarizó la suspensión de *K. radicincitans* a una concentración equivalente a 0,5 Mc Farland. Se sembró un inóculo de (10 ml de suspensión de bacterias) en 100 ml de los respectivos medios de cultivo. Se incubó en estufa a 28°C con agitación de 120 rpm por 5 hs. Para cuantificar el crecimiento se realizaron diluciones seriadas y se sembraron en placas conteniendo agar de recuento.

La bacteria alcanzó un crecimiento de  $1,9 \times 10^6$  ufc/ml en el medio a base de bagazo con el agregado de extracto de levadura comercial (a); en el medio conteniendo sólo bagazo la densidad microbiana fue de  $7,2 \times 10^5$  ufc/ml (b); en el medio con el agregado de levadura deshidratada se obtuvo un recuento de  $1,06 \times 10^6$  ufc/ml (c); En el ensayo control, se obtuvo un desarrollo de  $1,0 \times 10^7$  ufc/ml(d). No presentaron diferencias significativas de crecimiento los medios con adición de extracto levadura comercial (a) y el adicionado con levadura deshidratada (c).

Los resultados demuestran la posibilidad de formular un medio económico con bagazo y levadura descartada de la industria cervecera, para la producción de *K. radicincitans*. Además de una alternativa novedosa para su conservación a largo plazo y su uso posterior en aplicaciones biotecnológicas.

## ROL DE LOS RNA DE INTERFERENCIA EN LA RESPUESTA A LA ACIDEZ EN *Sinorhizobium meliloti*.

Walter O. Draghi (1)\*, Melamed A. (1), Martínez-Aguilar L. (2), Moreno-Ocampo A. (2),  
Lagares A. (1), López-Lara I.M. (2), Geiger O. (2)

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM). Fac. Cs. Exactas. UNLP. CCT La Plata.  
CONICET, La Plata, Argentina. (2) Centro de Ciencias Genómicas (CCG). Universidad Nacional  
Autónoma de México. Cuernavaca, México.

\*wdraghi@biol.unlp.edu.ar

El estrés ácido es una condición abiótica que limita severamente el crecimiento y la performance simbiótica de *Sinorhizobium meliloti* (*Sme*), simbiote de *Medicago sativa*. Para hacer frente a la acidez las bacterias despliegan una respuesta multigénica para superar los efectos nocivos de dicho estrés. Un mecanismo común es la remodelación de las membranas celulares, modificando su permeabilidad para mantener la homeostasis celular. En experimentos previos se observó una expresión diferencial del gen *lpiA* en los cultivos de *Sme* crecidos a bajo pH. El gen *lpiA* codifica para una enzima con actividad aminoacil-fosfatidilglicerol sintasa, implicada en la síntesis del lípido aniónico lisilfosfatidilglicerol (LPG), el cual se encuentra formando parte de un operón junto al gen *acvB*, el cual codifica una enzima con actividad hidrolasa. En *Agrobacterium tumefaciens* se ha observado que la expresión de ambos genes genera, entre varias respuestas, una defensa al estrés ácido de la bacteria, aunque se desconoce con precisión el mecanismo bioquímico subyacente. En *Sme*, sin embargo, no se ha podido observar la presencia del lípido en condiciones de acidez, más allá de la sobreexpresión de los genes implicados en su síntesis. El contexto genómico del operón permite identificar a dos *cis* asRNA los cuales, de acuerdo con predicciones bioinformáticas, podrían ejercer una regulación post transcripcional sobre el gen *acvB* y, de esta manera, alterar el correcto funcionamiento del sistema *lpiA-acvB* para la defensa celular a la acidez.

Para determinar el rol de los asRNA en la síntesis del LPG, y utilizando técnicas de ingeniería genética, se generó un mutante delecional en uno de los mismos ( $\Delta$ asRNA\_1215). Las cepas fueron cultivadas en medio Evans ácido (pH 6.1), adicionando  $^{14}$ C-acetato como fuente de Carbono marcado. Se obtuvieron los *pellets* celulares por centrifugación en fase de crecimiento exponencial temprana ( $DO_{600}$ :  $0.2 \pm 0.1$ ) y se obtuvo la fracción lipídica total, la cual se separó por cromatografía de capa fina a fin de determinar por autoradiografía la presencia de LPG. Paralelamente se realizaron ensayos de respuesta al estrés ácido a través de la determinación del tiempo de reducción decimal ( $D_{10}$ ) de las cepas bajo estudio frente a un shock ácido (pH 4.0).

Los resultados permitieron observar que tanto *Sme* salvaje como el mutante delecional ( $\Delta$ asRNA\_1215) no evidenciaron la presencia de LPG, por lo que  $\Delta$ asRNA\_1215 no estaría implicado en la regulación de la síntesis de dicho lípido. Sin embargo, se pudo determinar que  $\Delta$ asRNA\_1215 mostró un comportamiento alterado frente al shock ácido, presentando valores significativamente menores de  $D_{10}$  frente a la cepa salvaje. Estos resultados permiten inferir que dicho regulador estaría implicado en otros blancos genéticos de acción frente a la acidez. Estudios de análisis global sobre dicha cepa (ómicas) permitirán determinar cuál es o son los niveles de regulación de dicho asRNA frente al estrés ácido en *Sme*.

**EFFECT OF AERATION CONDITIONS ON GROWTH AND LEAF INFECTION OF  
*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* B728a**

Florencia I. Bianchi (1)\*, Martiniano M. Ricardi (2), José G. Ibarra (1),  
Nancy I. López (1,3), Paula M. Tribelli (1,3)

(1) Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina, (2) IFIBYNE-CONICET, (3) IQUBICEN-CONICET

\*bianchiiflor@gmail.com

In *Pseudomonas* anaerobic metabolism is controlled by the regulator Anr, which binds to the promoter region of target genes, called Anr-box. *P. syringae* is a plant pathogen that includes many pathovars. *P. syringae* pathovars are considered aerobes due to the lack of genes involved in nitrate reduction and arginine fermentation. However, *P. syringae* pv. *syringae* B728a (B728a) possess the arginine deiminase pathway with an Anr-box upstream of *arcD*. The aim of this work was to analyze the effect of low oxygen conditions on B728a growth and infection ability using the plant model *Nicotiana benthamiana*. Anr regulon comparison in different plant associated *Pseudomonas* species was done focusing on genes involved in virulence or plant interaction.

B728a was grown in 0.5NE2 medium supplemented with 1% glucose and 50 mM of arginine. Microaerobic cultures (M) were incubated in sealed bottles without agitation while aerobic cultures (A) were incubated in Erlenmeyer flasks at 200 rpm. *N. benthamiana* leaves were inoculated with 100  $\mu$ l of cultures at  $OD_{600nm}=0.5$ . After 16 and 72 h post-inoculation (hpi), the virulence halos diameter was measured and bacterial counts (CFU/ml) were performed on cetrimide agar plates. Additionally, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> disk assays and DNA agar, milk agar and blood agar plates were used to measure oxidative stress and activities halos. Anr-boxes were predicted using PRODORIC platform.

At 16 hpi most of the leaves inoculated with B728a M did not present virulence halos but those inoculated with B728a A did, while at 72 hpi halos showed no significant differences (t-Student test;  $P>0.05$ ). At 72 hpi,  $2667\pm 1115$  CFU/ml in the leaves inoculated with A and  $9244\pm 3598$  CFU/ml in those inoculated with M were observed, showing significant differences between aeration conditions ( $P<0.05$ ). No halos were observed in seeded agar plates indicating that there was no production of surfactants, proteases, or DNases under the evaluated conditions. However, significant differences were observed in oxidative stress assays between A and M ( $P<0.05$ ), with higher resistance in A. Comparative bioinformatic analysis of Anr-regulon in plant growth promoters (PGP) and plant pathogens showed the presence of around 100 genes putatively regulated. Anr-box upstream *arcD* was strain dependent in *P. syringae* pathovars and PGP *P. fluorescens*. An Anr-box in *clpB2* encoding the type VI secretion system secretion ATPase was observed in both pathogens and PGP. An Anr-box was detected in the virulence-related gene encoding the Type III effector HopAT1 in *P. syringae* pv. *phaseolicola* 1448A, this gene was absent in B728a.

B728a was able to grow under microaerobic conditions, however, early infection capacity was impaired. We postulate that the lower resistance to oxidative stress of the bacteria from M constitutes a disadvantage for thriving in the foliar environment in the early stages of infection. The Anr regulator can probably be involved in plant interaction related processes.

## INFLUENCIA DE GLIFOSATO SOBRE LA PRODUCCION DE ERGOSTEROL POR *Aspergillus flavus* AISLADO DE MAÍZ

Carranza, CS\*, Benito, N, Magnoli, K, Aluffi, ME, Barberis, CL, Magnoli, CE  
IMICO, CONICET. Departamento de Microbiología e Inmunología Facultad de Ciencias Exactas,  
Físico-Químico y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nacional 36 Km 601, Río  
Cuarto, Córdoba, Argentina.  
\*ccarranza@exa.unrc.edu.ar.

El maíz es uno de los principales cultivos extensivos sembrados en Argentina, es susceptible a sufrir infección por una gran variedad de microorganismos, que pueden causar enfermedades, deterioro o efectos tóxicos, dentro de ellos, la especie fúngica *A. flavus* es una de las más relevantes. El uso de prácticas de labranza cero ha aumentado el uso de herbicidas, como glifosato, que podrían influir en la contaminación producida por *Aspergillus*. El ergosterol es un componente de las membranas celulares de los hongos, capaz de modificar la fluidez y permeabilidad de la misma o actuando como modulador de algunas proteínas celulares. Por lo tanto, compuestos que alteran la biosíntesis del ergosterol afectan la permeabilidad de la membrana celular y la actividad de las enzimas enlazadas a la misma, lo que conduce a modificaciones en el crecimiento fúngico, utilizando al mismo como indicador de crecimiento. Si bien se conoce el impacto de este herbicida sobre la microbiota de suelos, no existe información sobre la influencia de glifosato en la síntesis de ergosterol de este hongo fitopatógeno y toxicogénico.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes dosis de glifosato sobre la síntesis de ergosterol de *A. flavus* aislado de maíz. La cepa de *A. flavus* (AFM 16) fue utilizada en este estudio; inoculada (100 µL) mediante una suspensión de esporas ( $1 \times 10^7$  esporas/ mL) en 50 mL de caldo extracto harina de maíz. El mismo fue adicionado con diferentes concentraciones de glifosato Roundup® Control MAX (0, 0,5, 1,5, 10, 15, 30, 50, 150 y 300 mM) e incubado a 28 °C durante 96 horas. Se determinó el peso seco de los micelios obtenidos en cada tratamiento y posteriormente, cada uno de ellos fue filtrado, lavado y tratado con KOH y n-heptano. La determinación de la concentración de ergosterol en cada uno de los tratamientos fue determinada y cuantificada por HPLC.

El análisis de los pesos secos, mostró que a medida que aumentó la concentración de glifosato en el medio de cultivo, el peso de los micelios también lo hizo significativamente hasta los 15 mM del herbicida, por encima de esta concentración el peso comenzó a disminuir, pero esta reducción solo fue significativa con respecto al control desde los 150 mM de glifosato adicionado. En concordancia con los resultados anteriores, la concentración de ergosterol aumentó a medida que el glifosato presente en el medio también lo hizo, mostrando un amplio incremento significativo a los 15 mM del herbicida. Cabe destacar que, con 300 mM, la detección de ergosterol resultó casi nula.

Esta información es importante para conocer la influencia de uno de los herbicidas más utilizados en nuestro país sobre la integridad de la composición de las membranas fúngicas de hongos fitopatógenos de maíz.

## EVALUACIÓN DE LA BACTERIZACIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ CON DIFERENTES AISLAMIENTOS AUTÓCTONOS DEL GÉNERO *Pseudomonas*: EFECTOS DEL PROTECTOR BACTERIANO Y LA HIDRATACIÓN DE LAS SEMILLAS

Melani Lorch (1,2)\*, Claudio Valverde (1,2), Betina Agaras (1,2)

(1) Laboratorio Fisiología y Genética de Bacterias Beneficiosas para Plantas, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET, Argentina.

\*mglorch@gmail.com

Diversas especies bacterianas del género *Pseudomonas* son habitantes del suelo y contribuyen a la salud vegetal. Nuestro laboratorio cuenta con una colección de 20 aislamientos caracterizados *in vitro* según sus capacidades de promoción del crecimiento de las plantas. El objetivo de este trabajo es continuar con la investigación de capacidades relacionadas a un buen desempeño como bioinsumo de un subgrupo de 6 aislamientos de *Pseudomonas* de nuestra colección, pertenecientes a diferentes especies. Ya que los inoculantes pueden aplicarse días antes de la siembra, se evaluó la capacidad de cada aislamiento de permanecer adherido a semillas de maíz, hasta 4 días post-inoculación (dpi).

Las semillas de maíz variedad KM8701 VIP3 no desinfectadas se inocularon según la dosis recomendada (7 ml/kg) de una suspensión bacteriana de  $DO_{600}=1,0$ , con o sin el agregado de 28,6 % v/v del protector comercial Premax® (Rizobacter Argentina S.A., RASA). Se realizó una cinética de decaimiento de la bacterización durante 4 dpi, recuperando diariamente las bacterias adheridas y cuantificando en medio selectivo. La germinación de las semillas bacterizadas fue evaluada diariamente. Como control de estrés por desecación, se remojaron las semillas por 16 hs previo a la bacterización y se recuperaron al día 0. Como control de decaimiento del inóculo, se evaluó la viabilidad diaria de la suspensión de  $DO_{600}=1,0$  hasta 4 dpi, en iguales condiciones de almacenamiento que las semillas inoculadas.

La adición de Premax® mejoró significativamente la recuperación al día 0 de todos los aislamientos evaluados, respecto del control sin tratar (25x para RBAN4, 15,2x para RPAN1, 11x para SVBP6, 4x para SPAN5, 3,6x para SVMP4 y 3,4x para SMMP3; LSD Fisher,  $p < 0,05$ ). Para los aislamientos SPAN5, SMMP3 y SVMP4 no se vieron diferencias significativas en la recuperación con y sin Premax® en los 4 días posteriores. Durante toda la cinética, los recuentos más altos se obtuvieron para el aislamiento RBAN4 (LSD Fisher,  $p < 0,05$ ). La recuperación al día 0 a partir de las semillas remojadas fue mayor respecto de las semillas sin remojar para todos los aislamientos, sin efecto del protector, excepto para SVMP4 (LSD Fisher,  $p < 0,05$ ). La germinación de las semillas no se vio afectada por la bacterización ni por el almacenamiento. Asimismo, las suspensiones bacterianas mantuvieron su viabilidad hasta 4dpi, excepto el día 4 de SMMP3.

En conclusión, el uso del aditivo mejoró diferencialmente la recuperación de los aislamientos a partir de semillas de maíz, mostrando los mejores resultados para *P. protegens* RBAN4. Sugerimos que la caída de la recuperación inicial a partir de las semillas podría deberse al estrés por desecación. Asimismo, el decaimiento en las cinéticas no se debería a una pérdida de la viabilidad bacteriana. Debido a que el efecto del protector bacteriano comercial no fue el mismo para todos los aislamientos, es necesario continuar evaluando otras formulaciones para mejorar la bacterización.

**EVALUACIÓN *IN SITU* DE BACTERIAS ENDÓFITAS DE GARBANZO CON CAPACIDAD  
ANTIFÚNGICA CONTRA *Ascochyta rabiei*,  
AGENTE CAUSAL DE LA RABIA DEL GARBANZO**

Lucio Valetti (1)\*, Florencia Sardo (1), María Verónica Bianco (2), Clara Crociara (1),  
Silvina Pastor (1), Mariela Monteoliva (2)  
(1) IPAVE-CIAP-INTA, UFYMA. Córdoba, Argentina; (2) IFRGV-CIAP-INTA, UDEA. Córdoba,  
Argentina.  
\* valetti.lucio@inta.gob.ar

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es la tercera legumbre más importante del mundo. Una de las enfermedades fúngicas más devastadoras y económicamente importante a nivel mundial es “la rabia del garbanzo” causada por el hongo *Ascochyta rabiei*, capaz de provocar pérdidas de rendimiento hasta del 100%. El manejo de la enfermedad consiste en aplicaciones repetidas que implican un alto costo económico. Además, el uso excesivo de fungicidas puede favorecer la aparición de resistencia de patógenos a través del tiempo disminuyendo así su eficiencia. Por lo tanto, es necesario buscar alternativas más eficientes y “respetuosas” del ambiente. Las bacterias endófitas pueden beneficiar a su hospedador mediante diversos mecanismos que incluyen la producción de metabolitos antifúngicos y la inducción de resistencia sistémica (ISR), por ello, son buenos candidatos como biocontroladores. En un trabajo previo, se seleccionaron los aislamientos endófitos NKG-50 y HFG-8 por su capacidad antagónica *in vitro* contra *A. rabiei*. El objetivo de este trabajo fue evaluar *in situ* el efecto de dichos aislamientos y sus metabolitos sobre la incidencia e intensidad de la enfermedad.

Para la preparación del inóculo del patógeno, se obtuvo una suspensión de esporas ajustada a una concentración de  $1 \times 10^5$  esporas/ml a partir de un cultivo de 14 días crecido en CSMA a  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  (fotoperiodo 12h luz blanca/negra). Se recolectaron hojas de garbanzo variedad Chanaritos S-156 de plantas de 30 días de edad crecidas en condiciones controladas. Las hojas esterilizadas superficialmente se sumergieron durante 15 min en el cultivo bacteriano crecido en TSA, o en el sobrenadante estéril para evaluar el efecto de los metabolitos. Posteriormente, se colocaron en placas de Petri conteniendo agar agua, cada folíolo se inoculó con 5  $\mu\text{l}$  de suspensión de esporas y se mantuvieron durante 5 días a  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  (fotoperiodo 12h luz blanca/negra). La incidencia de la enfermedad (%) se expresó como la proporción de folíolos enfermos. El % de área dañada se calculó utilizando el software ImagenJ. Se utilizaron tres placas de Petri para cada tratamiento y cada placa contenía una hoja con 12-14 folíolos. Los resultados se analizaron mediante ANAVA y el test LSD ( $p < 0,05$ ).

La inoculación de ambos cultivos puros disminuyó significativamente la incidencia e intensidad de la enfermedad. El aislamiento NKG-50 mostró el mejor comportamiento alcanzando un 10% de incidencia y 3,6% del área foliar dañada en comparación con el control que mostró valores del 100% y 68% respectivamente. Si bien los cultivos filtrados no afectaron la incidencia de la enfermedad, NKG-50 produjo una disminución significativa del área dañada (30% de la hoja).

Estos resultados permiten concluir que dichos aislamientos son potenciales biocontroladores para la rabia del garbanzo lo cual nos motiva a continuar avanzando con la caracterización de estas cepas y con ensayos en invernadero.

**EVALUACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp. CONTRA EL PATÓGENO *Colletotrichum theobromicola* CAUSANTE DE LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO**

Lucio Valetti (1)\*, Nelson Bernardi Lima (1), Silvina Pastor (1), Laura Otero (1), Ruth Cáceres (4), Sara Quintero (4) Claudia Maza (3), Mónica Roca (4), Franca Carrasco (2)  
(1) INTA, IPAVE-CIAP, Córdoba, Argentina; (2) INTA EEA Catamarca, Catamarca, Argentina, (3) INTA EEA Chilecito, La Rioja, Argentina; (4) UNLaR, FCA, La Rioja, Argentina  
\*valetti.lucio@inta.gob.ar

La antracnosis del olivo causada por *Colletotrichum* spp., es una de las principales enfermedades del olivo la cual genera pérdidas elevadas debido a la pudrición del fruto y la reducción en la calidad del aceite. *C. theobromicola* es una de las especies más frecuentes en fruto a cosecha. Debido a los efectos adversos en el ambiente y en la calidad de los alimentos que produce el uso excesivo de agroquímicos, es necesario buscar alternativas en las prácticas de manejo de la enfermedad que incluyan el uso de biocontroladores “respetuosos” del ambiente. *Trichoderma* spp. es el antagonista más utilizado para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos. Los mecanismos descritos por los cuales *Trichoderma* desplaza al fitopatógeno son: a) competencia directa por el espacio o por los nutrientes, b) producción de metabolitos antibióticos, c) parasitismo directo sobre los hongos fitopatógenos y d) inducción de resistencia sistémica. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antagonista de 15 aislamientos de *Trichoderma* pertenecientes a la colección IPAVE, frente al patógeno *C. theobromicola* IPAVE 072, en ensayos *in vitro*.

El efecto antagonista se evaluó a partir de cultivos duales en placas con PDA. Se colocó un taco de agar con micelio del hongo antagonista a 2 cm del borde en el lado opuesto al patógeno. Se incubó a 25 °C, se midieron los radios de crecimiento durante una semana y se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) según la fórmula:  $PIC = (R1 - R2) / R1 \times 100$ , donde R1 es el radio del patógeno testigo y R2 es el radio del patógeno en enfrentamiento. Para evaluar el efecto de metabolitos no volátiles, cultivos de *Trichoderma* de 15 días de incubación a 25°C en caldo papa glucosado fueron filtrados y adicionados al medio PDA (10% V/V) en placas de Petri. Se colocaron tacos de micelio de *C. theobromicola* en el centro de la placa en presencia y ausencia del filtrado de *Trichoderma*. Luego de 7 días de incubación a 25 °C se midió el diámetro de la colonia y se calculó el PIC como fue descrito anteriormente.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante A.N.A.V.A. y separación de medias según el test estadístico DGC ( $p < 0,05$ ). En el enfrentamiento en placas duales, todos los aislamientos evaluados mostraron una inhibición del crecimiento del patógeno presentando valores de PIC entre 59,5 y 79,3%, siendo el aislamiento JM47 el que alcanzó significativamente el porcentaje de inhibición más elevado. Por el contrario, los cultivos filtrados no tuvieron un efecto antagonista importante sobre el patógeno ya que solamente los aislamientos SG-38 y RN-34 inhibieron en un 13,18 y 10,37% el crecimiento de *C. theobromicola* lo cual sugiere que la producción de metabolitos antifúngicos no es efectiva o está ausente.

*Trichoderma* posee potencial como agente biocontrolador de *C. theobromicola*, sin embargo, es necesario continuar con los estudios para determinar otros mecanismos involucrados en el antagonismo sobre el patógeno.

## AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE BACTERIAS ENDOFÍTICAS Y RIZOSFÉRICAS DE PLANTAS DE SOJA PARA EL DESARROLLO DE AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO

David L. Villafañe (1,2)\*, Camila Taddia (2), Hugo Gramajo (1), Maria Amalia Chiesa (2), Eduardo J. Rodriguez (1)

(1) Departamento de Microbiología, FCByF- UNR; IBR-CONICET. Ocampo y Esmeralda S/N, 2000 Rosario, Santa Fe, Argentina. (2) LEFIVE - IICAR-CONICET/UNR. Pque. Villarino S/N, 2125 Zavalla, Santa Fe, Argentina.

\*villafane@ibr-conicet.gov.ar

Los microorganismos benéficos del suelo, como las bacterias pertenecientes al género *Streptomyces* (productoras de compuestos antifúngicos), pueden ser capaces de estimular el crecimiento y desarrollo vegetal a través de mecanismos de promoción directa, mediante la mejora del estado fitosanitario al suprimir patógenos potenciales o inducir el sistema inmune de las plantas. Esto es conocido como control biológico y en los últimos años ha sido una estrategia explorada para tratar enfermedades que afectan a diversos cultivos, surgiendo como una alternativa sustentable al uso de agroquímicos. No obstante, el rol benéfico que las bacterias del género *Streptomyces* poseen sobre las plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merr] ha comenzado a estudiarse recientemente. El objetivo del presente trabajo consistió en caracterizar cepas de *Streptomyces* para su aplicación potencial como agentes de control biológico y promotoras del crecimiento vegetal.

De esta manera, 78 cepas pertenecientes al género *Streptomyces* fueron aisladas a partir de plantas de soja de la zona sojera núcleo de Argentina (Zavalla, Santa Fe). El 50 % de los aislamientos mostraron compatibilidad con el inoculante *Bradyrhizobium japonicum* y éstos fueron analizados para determinar su actividad frente a diversos hongos fitopatógenos de gran impacto sobre el cultivo de la soja como *Macrophomina phaseolina*, *Diaporthe sp.*; *Fusarium sp.*, entre otros. Las 12 cepas que mostraron mayor efecto antagónico frente a los hongos mencionados fueron posteriormente analizadas en ensayos *in vitro* para evaluar su potencial como promotoras del crecimiento vegetal. Para esto se evaluaron los siguientes parámetros: (i) producción de fitohormonas como el ácido indol-3-acético (AIA), (ii) producción de sideróforos y (iii) solubilización de fosfato inorgánico. Los resultados obtenidos permitieron demostrar que las 12 cepas son capaces de producir niveles elevados de AIA y sideróforos, mientras que al menos cuatro de ellas mostraron índices altos de solubilización de fosfato inorgánico. Luego, se evaluó el efecto de dos de las cepas de *Streptomyces* en plantas de soja, en condiciones de invernadero, visualizándose una protección significativa ( $P < 0,05$ ) frente a la infección con *D. aspalathi*, agente causal del cancro del tallo de la soja, así como también un incremento significativo ( $P < 0,05$ ) en el porcentaje de emergencia de las plántulas pre-tratadas en comparación con un control sin inocular. Además, un efecto similar se obtuvo cuando se analizó el porcentaje de germinación a través de una Prueba de Germinación Estándar en cámara de cría ( $P < 0,05$ ).

En conclusión, se logró demostrar la capacidad de las bacterias aisladas para proteger a las plantas de soja, tanto *in vitro* como in planta, así como también su capacidad para promover los parámetros de crecimiento vegetal analizados.

## EXPLORANDO EL MICROBIOMA DEL SUELO PARA LA DETECCIÓN DE INDICADORES TAXONÓMICOS DEL IMPACTO ECOLÓGICO GENERADO POR EL CULTIVO DE VID

Marcos Paolinelli (1), Laura Martinez (2), Sandra García-Lampasona (1), Camilo Diaz-Quiros (3), Marcelo Belmonte (4), Gaston Ahumada (4), Miguel Angel Pirrone (4), Georgina Escoriaza (1), Marisa Farber (5,6), Magalí González (1), Cecilia Lerena (1,6), Mariana Combina (1,6), Laura Mercado (1,7)\*

(1) Estación Experimental Agropecuaria de Mendoza, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Luján de Cuyo, Argentina. (2) Estación Experimental Agropecuaria Rama Caída, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, San Rafael, Argentina. (3) Biovin S.A, Luján de Cuyo, Argentina. (4) Bodega Trapiche., Maipú, Argentina. (5) IABIMO (UEDD INTA-CONICET), Hurlingham, Argentina. (6) CONICET, Buenos Aires, Argentina. (7) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Luján de Cuyo, Argentina.

\*mercado.laura@inta.gob.ar

En los próximos años, el conocimiento desarrollado sobre el rol ecológico de taxones microbiológicos del suelo resultará fundamental para diseñar prácticas de viticultura sustentables con bajo impacto ambiental. Por esta razón, en el presente estudio se evaluó la relación entre la composición bacteriana en suelos bajo cultivos de vid y prístinos obtenidos en dos regiones vitícolas de Mendoza: Gualtallary (Valle de Uco, 1235 msnm, Región Winkler III) y Santa Rosa (Este de Mendoza, 110 msnm, Región Winkler V).

Para esto se realizó la toma de muestras de suelo superficial (15 cm de profundidad), extracción de ADN, amplificación de la región variable V3-V4 del gen 16S y secuenciación en Illumina MiSeq 2x300 pb. Las lecturas se procesaron mediante mothur v38.1 y en el paquete phyloseq de R, para obtener el número de lecturas por unidad taxonómica operativa (UTO) que pudieron ser asignados a nivel taxonómico de género. De acuerdo a la comparación de la abundancia relativa entre condiciones, se proponen algunos indicadores del efecto antrópico.

*Craurococcus* resultó ser el género bacteriano de mayor presencia en suelos prístinos del pedemonte y que se caracteriza por su capacidad de oxidación de metanol, producto derivado de la oxidación de metano. Su ausencia en los sitios de muestreo con mayor historial de cultivo, sugiere efectos antrópicos que podrían favorecer la emisión de este gas de efecto invernadero. *Nibribacter* es un género de la familia Cytophagaceae, la cual contiene algunos miembros con capacidad de fijar nitrógeno en su forma de vida libre, se asocian con mayor estabilidad de costras biológicas en suelos áridos y se han reportado como indicadores taxonómicos de suelos sometidos a labranza convencional. Su disminución en suelos con mayor tiempo de cultivo, sugiere que se ve comprometida la capacidad de proveer nitrógeno (como  $\text{NH}_4^+$ ). *Rhodocytophaga*, también de la familia Cytophagaceae, se caracteriza por poseer alta resistencia a UV, y se la encontró en menor abundancia en suelos cultivados. Caso inverso, *Algisphaera*, aumentó su abundancia en suelos cultivados, y dado que tiene la capacidad de realizar oxidación anaeróbica de amonio (anammox), lleva a la conversión de  $\text{NH}_4^+$  a dinitrógeno y, por lo tanto, pérdida de nitrógeno asimilable por la planta. En general, en los suelos áridos sin cultivar existen microorganismos adaptados a un ambiente con alta radiación y temperatura, bajo contenido de humedad y nutrientes. Los manejos de suelo con labranzas excesivas y riegos abundantes podrían disminuir la abundancia de taxones involucrados a la fijación de carbono y nitrógeno y fomentar procesos anaeróbicos que afectarían la fertilidad edáfica como así también aumentar la emisión de metano a la atmósfera.

## INCORPORACIÓN DE CULTIVOS DE COBERTURA EN SECUENCIAS DOMINADAS POR SOJA: EFECTO DE LA CALIDAD DE RASTROJO SOBRE GRUPOS MICROBIANOS DE SUELO

Marianela Fontana (1)\*, Maria A. Sterren (1), Leonardo Novelli(1,2), Walter Uhrich (1), Pedro Barbagelata (1,3), Silvia Benintende (1).

(1) Facultad de Ciencias Agropecuarias. UNER. Oro Verde, Argentina. (2) CONICET, Argentina.

(3) INTA EEA Paraná, Ruta 11. Km 12,5 (3100). Paraná, Argentina

\*marianela.fontana@fca.uner.edu.ar

El predominio del cultivo de soja en secuencias agrícolas de Argentina no es una práctica sustentable, por sus consecuencias ambientales, agronómicas y económicas. La intensificación de las secuencias de cultivos mediante la inclusión de cultivos de cobertura (CC), es una alternativa para minimizar dichos impactos negativos. El CC incorporado en una rotación dominada por soja, aporta restos vegetales con una composición química tal que modifican los ingresos de sustrato al suelo y, consecuentemente, el ambiente edáfico, lo que puede reflejarse en la composición de la biota del suelo. Se planteó: a) analizar la composición química del rastrojo en secuencias con dominio de soja; b) analizar el efecto de la inclusión de CC en estas secuencias sobre grupos microbianos de suelo; y c) relacionarlos con las cantidades aportadas de distintos componentes químicos del rastrojo.

Se trabajó en un ensayo de larga duración bajo siembra directa, en Paraná, Argentina. Se estudiaron cuatro tratamientos: I) monocultivo de soja fertilizado con P y S ( $S_j$ ), II) CC/soja fertilizada con P y S ( $CC/S_j$ ), III) CC fertilizado con N/soja fertilizada con P y S ( $CCN/S_j$ ) y IV) CC fertilizado con N/soja fertilizada con P y S en una rotación: trigo/soja-maiz- $CCN/S_j$  ( $CCN/S_j$  rot). Los tratamientos fueron dispuestos en un diseño en bloques completos al azar (DBCA), con tres repeticiones. Se realizaron ANAVA, test de comparación de medias (LSD,  $\alpha=0,05$ ) y análisis de correlación. En octubre de 2018, luego de suprimido el cultivo de cobertura, se recolectaron muestras de rastrojo, se les determinó la concentración (%) de lignina (Lig), celulosa (Cel), hemicelulosa (Hemicel) y carbohidratos solubles (CHO), y se transformó a  $kg\ ha^{-1}$ . En mayo de 2019, se recolectaron muestras de suelo a 0-5 cm, sobre las que se determinaron C de biomasa microbiana (CBM), fúngica (CBF) y bacteriana (CBB).

Las secuencias de cultivos aportaron distintas cantidades ( $kg\ ha^{-1}$ ) de Cel y Hemicel;  $S_j$  aportó 64 y 72% menos que el promedio de los tratamientos que incluyeron CC, respectivamente. No hubo diferencias en las cantidades de Lig ni CHO. Se encontraron diferencias significativas en las variables CBM y CBB y en ambos casos  $S_j$  mostró los menores valores para estas variables. Como el CBB fue afectado por las secuencias, se analizó la relación entre la masa bacteriana (CBB) y la suma de las cantidades de los compuestos degradados en mayor medida por las bacterias (Cel+Hemicel+CHO), y se observó que  $S_j$  aportó la menor cantidad de estos compuestos. Finalmente, se encontró una correlación positiva entre CBB y Cel+Hemicel+CHO ( $r=0,80$ ;  $p=0,002$ ). Esto sugiere que la inclusión de CC estimuló el desarrollo de las bacterias, relacionado con la cantidad aportada de los compuestos degradados por este grupo microbiano. Sin embargo, la incorporación de CC en secuencias con dominio de soja no alteró la masa fúngica en el suelo, lo que puede relacionarse a que no hubo aportes diferenciales de Lig entre tratamientos.

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE AGROQUÍMICOS SOBRE EL NIVEL DE COLONIZACIÓN Y DISPONIBILIDAD DE INÓCULO INFECTIVO DE HONGOS QUE FORMAN MICORRIZAS ARBUSCULARES EN UN CAMPO SEMBRADO CON SOJA (*Glycine max*)**

Romina Dalmasso, Pilar Fernandez Valdes, María Soledad Anzuay,  
Liliana Ludueña Tania Taurian, Jorge Angelini  
Instituto de Investigaciones Agrobiotecnológicas, Río Cuarto, Argentina  
\*rdalmasso@exa.unrc.edu.ar

Las micorrizas arbusculares (MA) constituyen el tipo de simbiosis más ampliamente representado en la naturaleza. El hongo que forma MA, mediante una red de micelio externo, conecta a la planta con los microhábitats del suelo, siendo más eficaz que la propia raíz para extraer nutrientes y agua. Además, el desarrollo de la simbiosis induce cambios en la fisiología de la planta que le otorgan mayor resistencia a diferentes tipos de estreses ambientales. Las altas tasas de fertilizantes inorgánicos y pesticidas utilizados en agricultura no sólo causan daños en el hábitat, sino que promueven o suprimen el crecimiento y la actividad microbiana, generan cambios en la estructura poblacional del suelo y reducen la viabilidad de esporas de hongos micorrízicos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la disponibilidad de inóculo infectivo de hongos que forman MA presente en un campo con historia agrícola del sur de la provincia de Córdoba y el efecto de la aplicación de agroquímicos sobre la colonización de dichos hongos en raíces de plantas de Soja (*Glycine max*).

Para estudiar el efecto de la aplicación de agroquímicos sobre el nivel de colonización de los hongos formadores de MA se establecieron 4 tratamientos en parcelas ubicadas en un campo del sur provincial: control (S1), con aplicación de fertilizantes biológicos (S2), con aplicación de agroquímicos (S3) y con aplicación conjunta de agroquímicos y fertilizantes (S4). Se tomaron muestras de 15 plantas de soja a los 40 días post siembra y al momento de la cosecha. La disponibilidad de inóculo a la siembra y a cosecha se evaluó por el método de Número Más Probable (NMP) utilizando muestras compuestas de suelo (15 sub muestras). El inóculo infectivo que tenía el suelo al momento de implantar el cultivo fue de 44 unidades infectivas en 100 gramos de suelo, mientras que al final del ciclo de cultivo fue inferior a 5 unidades infectivas/100g. de suelo en todas las parcelas. Los tratamientos no presentaron diferencias significativas en la colonización a los 40 días. Sin embargo, al momento de la cosecha fue significativamente mayor la colonización en los tratamientos sin la aplicación de agroquímicos. A lo largo del ciclo de cultivo la colonización aumentó en el tratamiento control mientras que disminuyó significativamente en aquellos tratamientos con aplicación de agroquímicos, y no se observaron diferencias significativas en cuanto a la aplicación de fertilizantes biológicos.

Estos resultados sugieren que la aplicación de agroquímicos produce cambios negativos a largo plazo en el nivel de colonización de hongos formadores de MA en las raíces y que la inoculación con fertilizantes biológicos no logra revertir dicha situación. Más estudios son necesarios para explicar la baja presencia de inóculo infectivo al momento de la cosecha, incluido un análisis microtopográfico, ya que podría estar ocurriendo una acumulación diferencial de restos de agroquímicos en el campo.

## REVALORIZACIÓN DE DESCARTES REGIONALES DE ZANAHORIA: PRODUCCIÓN DE INVERTASA PARA SÍNTESIS DE PREBIÓTICOS

Laureana Guerra (1)\*; Silvia Noelí López (2), María Victoria Castelli (2),  
Adriana Clementz (1), Diana Romanini (1)

(1) Instituto de Procesos Biotecnológicos y químicos de Rosario (IPROBYQ) CONICET, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. Rosario, Argentina. (2) Área Farmacognosia.

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. CONICET. Rosario, Argentina

\*laureanag@gmail.com

En la provincia de Santa Fe se generan, por temporada, 80 toneladas diarias de descarte de zanahorias. Esta situación genera pérdidas económicas para los productores y tiene impacto negativo a nivel ambiental y social. Pese a que las mismas poseen un alto contenido nutricional, la mayor parte no recibe ningún tratamiento destinado a su valorización, y sólo un 10% es empleado para alimentación del ganado. Por otro lado, los fructooligosacáridos (FOS) son ingredientes con características prebióticas, ampliamente utilizados en la producción de alimentos funcionales y que en Argentina se importan en su totalidad.

En base a este contexto, el objetivo de este trabajo es producir fructooligosacáridos mediante la utilización de enzimas con actividad transfructosilasa obtenidas a partir de descartes de zanahoria utilizando *Aspergillus niger* como productor.

Se utilizó bagazo de zanahorias como sustrato para la producción de invertasa por fermentación en estado sólido utilizando *A. niger* como productor. Se realizó un estudio de la composición proximal de dicho sustrato mediante las metodologías AOAC 925.10; AOAC 923.03, AOAC 920.87, y AOAC 973.18. Por otro lado, se evaluó la suplementación del bagazo con fuentes de nitrógeno. Los extractos enzimáticos obtenidos fueron concentrados por ultrafiltración y luego usados para la producción de FOS empleando como sustrato sacarosa 400 g/L. Los azúcares presentes en la mezcla de reacción fueron evaluados cualitativamente mediante cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC). Se utilizó como fase estacionaria sílica gel G-60 F254 y se evaluaron dos sistemas de solventes como fase móvil: A) 1-butanol/ 2-propanol/ ácido bórico 3:5:1 (v/v/v) y B) acetato de etilo/metanol/ácido acético 3:3:1 (v/v/v). Para el revelado de la placa se evaluaron dos reactivos a base de: C)  $\beta$ -naftol y D) anilina/difenilamina.

De acuerdo a la composición proximal del bagazo el porcentaje de proteínas presentes corresponde a 0,4 % p/p, lo cual resulta bajo en relación al de hidratos de carbono (9,6 % p/p). Por ello, se evaluó la suplementación con fuentes de nitrógeno, encontrándose que el agregado de urea, extracto de levadura y  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  aumentaba notablemente la producción de invertasa (de 15,5 U/mL a 210,65 U/mL). Mediante cromatografía en capa fina se determinó que el extracto enzimático concentrado (544,45 U/mL) es capaz de catalizar la síntesis de FOS, tales como 1-kestosa y nistosa. Se determinó que la fase móvil compuesta por 1-butanol/ 2-propanol/ ácido bórico 3:5:1 (v/v/v) es óptima para asegurar una adecuada separación de los componentes y que el revelador de anilina/difenilamina resulta el más apropiado.

Es posible producir enzimas capaces de sintetizar FOS a partir de descartes de zanahoria, utilizando *A. niger* como productor. Esto contribuiría a la revalorización del descarte y a mitigar los efectos negativos de su disposición final además de brindar la posibilidad de producir FOS en Argentina.

**BACTERIAL BIOFILM FORMATION ON THE SURFACE OF THE FILAMENTOUS FUNGUS  
*Trichoderma afroharzianum***

Viviana A. Barrera, Patricia L. Abdian\*

Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, G.V. al IABIMO (UEDD INTA-CONICET), CICVyA,  
INTA, Hurlingham, Buenos Aires, ARGENTINA

\*abdian.patricia@inta.gob.ar

In many environments, including soils, bacteria and fungi coexist and have multiple opportunities of physical interaction. The degree of association in these interactions is variable, ranging from bacterial endosymbionts inside fungal cells to the development of bacterial biofilms on the surface of fungal structures.

In this study we have employed fluorescent derivatives of PGPR commonly used for the production of biofertilizers (namely, *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109) to analyze their interaction with the biocontrol agent *Trichoderma afroharzianum* Th2RI99. Understanding the intimate interactions established by these microorganisms is a key feature to reveal biological processes relevant to the development of inoculation technology and agriculture.

The fungal colonies were grown at 25 °C for 24 h on SNA agar plates, while the bacteria were incubated in rich media with shaking at 28 °C, until the late exponential phase of growth. Bacteria were then washed in phosphate buffer and adjusted to a final concentration of 10<sup>9</sup> cells/mL. *T. afroharzianum* Th2RI99T colonies were transferred to 6-well microplates containing bacterial suspensions of *A. brasilense* Az39-DsRed, *B. japonicum* E109-GFP or a combination of both fluorescent strains. After 12 h incubation, planktonic and weakly associated bacterial cells were removed by washing with saline solution. Fungal colonies were then split in halves and mounted on slides. In some cases, staining of *T. afroharzianum* with Congo Red or Calcofluor White was performed before mounting. To avoid disturbance of the samples, the slides were immediately examined under epifluorescence light using an OLYMPUS BX 51 microscope. Digital photographs were taken using the Cool Snap-Pro System (Media Cybernetics, USA).

The images obtained showed that both *A. brasilense* and *B. japonicum* are able to interact with *T. afroharzianum*, adhering to its surface in the form of aggregates and biofilms. The movement of both bacterial strains along fungal hyphae was repeatedly observed. Moreover, colonization patterns in dual bacterial incubations showed segregation of each bacterial strain on fungal structures.

The results obtained show the ability of the selected PGPR to physically interact with the filamentous fungus *T. afroharzianum*. Both mycelia and hyphae serve as adhering surfaces allowing the development of bacterial biofilm-like structures. These observations may have important implications in understanding the distribution of microorganisms in terrestrial environments; in the study of interspecific functional interactions; and could be applied in the transition to novel inoculants, combining microorganisms that display a wider variety of beneficial properties for plant growth.

**PUESTA A PUNTO DE UNA TÉCNICA PARA LA VISUALIZACIÓN DIRECTA DE PERFILES PLASMÍDICOS EN CEPAS DE *Paenibacillus larvae*, AGENTE CAUSAL DE LA LOQUE AMERICANA DE LAS ABEJAS**

Ana C. López (1,2), Florencia Lamelza (1), Adriana M. Alippi (1,3)\*

(1) Unidad de Bacteriología, Centro de Investigaciones de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina (CONICET-CCT La Plata), La Plata, Argentina. (3) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina (CICBA).

\*alippi@biol.unlp.edu.ar

La enfermedad más grave de la etapa larval de las abejas melíferas es la loque americana, causada por la bacteria esporulada *Paenibacillus larvae*. En algunos países, donde la incidencia de la enfermedad es alta, aún se controla mediante aplicaciones del antibiótico oxitetraciclina con la consecuente aparición de fenotipos de resistencia asociados a pequeños plásmidos movilizables conteniendo el gen de resistencia a tetraciclina *tetL*.

Las técnicas de visualización de plásmidos en las bacterias Gram positivas formadoras de esporas no siempre resultan exitosas debido a la dificultad de lograr la lisis celular completa y/o la recuperación del ADN plasmídico. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue poner a punto una metodología adecuada para observar perfiles plasmídicos en cepas de *Paenibacillus larvae*.

Se emplearon 13 aislamientos del patógeno provenientes de distintos orígenes geográficos, con distinta sensibilidad a tetraciclina y diferentes patrones de *fingerprints* obtenidos por *rep*-PCR empleando cebadores ERIC y BOX. A partir de cultivos bacterianos de 24 horas, se inocularon tubos conteniendo 5 ml de caldo MYPGP y se incubaron durante 20 horas a 37 °C en agitación constante. Posteriormente, se centrifugaron a 10.000 X *g* a 4°C durante 15 minutos y el *pellet* resultante se resuspendió en 1.000 µl de TES (30 mM Tris base, 5 mM EDTA, 50 mM NaCl, pH 8,0) a 4 °C y posterior centrifugación en las mismas condiciones. Cada *pellet* obtenido se resuspendió en 150 µl de TES suplementado con 20% de sacarosa, 2 mg/ml de lisozima y 10 µg/ml de RNasa y se incubó a 37°C durante 90 minutos. Al cabo de ese tiempo, se añadió 300 µl de dodecil sulfato de sodio al 10% en TES (65°C, 15 minutos) y posteriormente, 150 µl de acetato de sodio 3 M (pH 4,8). La mezcla se mantuvo a -20°C durante 30 minutos, se llevó a temperatura ambiente y se centrifugó (10.000 X *g*, 20 minutos, 4°C), separando el sobrenadante y añadiendo dos volúmenes de etanol 96° en frío. Los tubos se mantuvieron durante toda la noche a -20°C y se centrifugaron en las mismas condiciones. Los *pellets* se resuspendieron en 100 µl de H<sub>2</sub>O bidestilada estéril y, previo a la siembra en gel de agarosa al 0,5%, se incubaron a 65 °C por 15 minutos. Las muestras se sembraron a razón de 30 µl por fosa y se realizó una electroforesis (6 hs, 30 V). Para determinar la reproducibilidad, se efectuaron 3 repeticiones de la técnica completa para cada cepa.

Dentro de la colección de aislamientos estudiados, se visualizaron diferentes perfiles plasmídicos. Todas las cepas con fenotipo de resistencia a tetraciclina (N=6) presentaron un patrón de 3 bandas de ADN plasmídico que no se observó en ninguna de las cepas sensibles. Dos de las cepas presentaron perfiles únicos correspondientes a 2 plásmidos y un megaplásmido y las restantes (N= 5) no presentaron bandas compatibles con ADN plasmídico.

La técnica resultó adecuada, sencilla y reproducible para visualizar patrones plasmídicos en cepas de *Paenibacillus larvae*.

## ANÁLISIS DE RECuentOS FÚNGICOS EN SUELOS INOCULADOS CON UN AISLADO DE *Mucor* sp. CON CAPACIDAD DE REDUCIR GLIFOSATO *in vitro*

Melisa Aluffi\*, Cecilia Carranza, Karen Magnoli, Nicolás Benito, Carla Barberis, Carina Magnoli IMICO (Instituto de Investigación en Micología y Micotoxicología). Departamento de Microbiología e Inmunología, UNRC (Universidad Nacional de Río Cuarto), Río Cuarto, Argentina.  
maluffi@exa.unrc.edu.ar

El sur de la Provincia de Córdoba, es una zona de producción de soja, maíz y maní, cultivos que requieren para su producción la utilización de diferentes pesticidas, siendo el glifosato (GP) el de mayor aplicación. Debido a las preocupaciones ambientales asociadas al mal uso de este herbicida, existe gran interés en el desarrollo de metodologías que permitan la biorremediación de este en los suelos. En estudios previos, de suelos agrícolas de la región sur de Córdoba, se hallaron diferentes aislados fúngicos con capacidad de tolerar altas concentraciones de glifosato y degradar el herbicida *in vitro*. En este estudio se utilizó el aislado N166, identificado a nivel morfológico como perteneciente al género *Mucor* sp.

El objetivo de este estudio fue analizar los recuentos de la microbiota cultivable en microcosmos inoculados con el aislado N166, y en presencia de diferentes concentraciones de GP. Se prepararon suspensiones de esporas ( $10^6$  esp/ml) del aislado N166 que se inocularon en muestras de suelo (sin historial de aplicación de GP) dispuestas en contenedores plásticos (1 kg) (microcosmos). Por otra parte, se aplicaron a los mismos, dos soluciones de GP: 0, 10 y 30 mM (Roundup-Control-Max). Este ensayo se incubó bajo condiciones controladas de humedad y temperatura durante 60 días; a lo largo de la experiencia se extrajeron 50 g de suelo al inicio del ensayo, a los 30 y a los 60 días. Se realizó el recuento fúngico total y de la cepa en estudio, expresado en UFC/g de cada muestra empleando el método de diseminación en superficie en el medio medio diclorán rosa de bengala cloranfenicol (DRBC).

El análisis de los recuentos demostró a los 30 días del ensayo, los recuentos fúngicos totales aumentaron significativamente en la condición control, donde no se aplicó GP, mientras que en las condiciones de 10 y 30 mM los recuentos no se vieron modificados en este periodo de tiempo. Este efecto no fue observado a los 60 días donde los recuentos fúngicos disminuyeron tanto en la condición control como a 10 mM de GP, estos aumentaron significativamente en la condición con más alta concentración ensayada del herbicida (30 mM).

Estos resultados muestran que la cepa en estudio (N166) posee una gran viabilidad en suelos contaminados con altas concentraciones de glifosato y, con respecto a la microbiota nativa presente en los mismos. Por otra parte, sugieren la posibilidad de considerar a esta cepa como un posible agente biorremediador de suelos agrícolas contaminados con glifosato.

## ANÁLISIS *IN SILICO* DE BACTERIOCINAS TIPO COLA DE FAGO PRODUCIDAS POR *Pseudomonas* RIZOSFÉRICAS

Viviana López-Ramírez, Jorge Asconapé, Jorge Angelini, Claudia Travaglia,  
Sonia Fischer\*

Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales,  
CONICET-INIAB, Río Cuarto, Argentina.

\*sfischer@exa.unrc.edu.ar

La rizósfera comprende gran diversidad y actividad microbiana. Una de las principales estrategias, usadas por algunas bacterias rizosféricas, para inhibir el crecimiento de otros microorganismos es la producción de bacteriocinas. En la actualidad, estos compuestos antimicrobianos tienen gran interés debido a su aplicación en diferentes áreas, incluida la agricultura, ya que se ha demostrado que algunas bacteriocinas son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias fitopatógenas. Las bacteriocinas tipo cola de fago (también llamadas tailocinas) presentan similitud con las colas retráctiles o flexibles de bacteriófagos de las familias *Myoviridae* y *Siphoviridae*, respectivamente. Gracias a la alta disponibilidad de genomas bacterianos secuenciados, la búsqueda *in silico* de genes es una estrategia de análisis genómico para predecir *clusters* completos de bacteriocinas. El objetivo de este trabajo es analizar los tipos de tailocinas presentes en el genoma de la cepa nativa *Pseudomonas fluorescens* SF39a e identificar los genes estructurales de distintas tailocinas.

El *cluster* biosintético de tailocinas en *Pseudomonas* spp. patógenas de humano se localiza entre los genes *trpE* y *trpG*, mientras que en *Pseudomonas* spp. benéficas asociadas a plantas se encuentran entre los genes *mutS* y *recA/recX*. Este *cluster* varía en longitud y puede codificar de 1 a 4 tailocinas. Teniendo en cuenta esto, se realizó una búsqueda de los genes localizados entre *trpE* y *trpG*, o *mutS* y *recA/recX* en la base de datos del NCBI y se construyó una base propia con los *clusters* de varias cepas de *Pseudomonas* spp. Las secuencias se analizaron con el algoritmo de BLAST. El alineamiento de las secuencias y los árboles filogenéticos se realizaron con el algoritmo clustal W. La búsqueda de fagos relacionados fue realizada usando las secuencias de nucleótidos de cada uno de los genes estructurales de las tailocinas de la cepa *P. fluorescens* SF39a y comparadas para predecir si la bacteriocina tipo cola de fago era retráctil o flexible.

Los resultados indican que *P. fluorescens* SF39a presenta en su genoma el *cluster* de dos bacteriocinas tipo cola de fago cuyos genes presentan identidad con bacteriófagos de la familia *Myoviridae*, sugiriendo que la cepa produce dos tailocinas retráctiles. El *cluster* de la primera tailocina retráctil de la cepa SF39a posee 14 ORFs, mientras que la segunda tiene 16 ORFs. Ambas tailocinas comparten los mismos genes de regulación y líticos. Por otro lado, las cepas de referencias de *Pseudomonas* spp. rizosféricas analizadas en este trabajo también presentaron en su genoma genes que codifican para una o dos tailocinas retráctiles; mientras que *P. aeruginosa* PAO1 (patógeno de humano) sintetiza una tailocina retráctil y otra flexible. Un análisis de genes ortólogos más completo podría ayudar a comprender la distribución de estas bacteriocinas en la naturaleza, en especial, en *Pseudomonas* benéficas asociadas a plantas.

## RIZOBACTERIAS NATIVAS COMO HERRAMIENTA SUSTENTABLE PARA INCREMENTAR EL ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS LEÑOSAS DE *Vitis vinifera*

María Gabriela Gordillo (1)\*, Magdalena Roge (2), Marcelo J. Belmonte (2),  
Carina V. González (1,3), Ana C. Cohen (3)

(1) FCEN-UNCUYO, Ciudad de Mendoza, Mendoza, Argentina. (2) Grupo Peñaflores S.A., Maipú, Mendoza, Argentina. (3) IBAM-FCA (CONICET-UNCUYO), Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

\*maggordillo87@gmail.com

Argentina cuenta con más de 215 mil hectáreas cultivadas, siendo Mendoza la provincia con mayor superficie cultivada del país (70.4%). Para establecer un viñedo, se utilizan barbechos producidos a partir de estacas leñosas. Durante la producción en vivero, se usan grandes concentraciones de auxinas sintéticas (ácido indol acético, o ácido indol butírico) para acelerar el enraizamiento. El uso excesivo de productos de síntesis genera impactos negativos en el ambiente. Debido a esto, es necesario el desarrollo de herramientas que permitan llevar a cabo una agricultura sustentable. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, Plant Growth Promoting Rhizobacteria) son bacterias simbiotes de las plantas, que producen ácido indol acético, entre otros metabolitos, promoviendo el crecimiento y el desarrollo radical.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de PGPR nativas de Cuyo sobre el enraizamiento de estacas de *V. vinifera*. Para ello, se incubaron estacas de *V. vinifera* durante 12 horas con los siguientes tratamientos: 1) Control (medio LB), 2) Agua, 3) Ácido indol butírico (1000ppm), 4) *Pseudomonas 42P4*, 5) *Enterobacter 64S1*, 6) consorcio de ambas cepas (*42P4+ 64S1*). Luego, las estacas incubadas fueron colocadas en una cama de propagación a 28°C durante 24 días. Pasado este periodo, se determinaron diferentes parámetros del enraizamiento sobre las estacas enraizadas: porcentaje de enraizamiento, y número, longitud y biomasa de raíces por estaca. Los datos se analizaron con MLM y MLGM con el software Infostat.

Los resultados indicaron que la cepa *Pseudomonas 42P4* promovió el enraizamiento, alcanzando valores similares en el porcentaje de enraizamiento, el número y la biomasa de raíces por estaca que en el tratamiento de auxinas (1000 ppm). Ni la cepa *Enterobacter 64S1* ni el consorcio de ambas cepas lograron alcanzar el porcentaje de enraizamiento ni el número y biomasa de raíces por estaca, que el tratamiento de ácido indol butírico (1000 ppm). El efecto de la inoculación de las estacas con los distintos tratamientos sobre la longitud de las raíces no fue tan notable. Los resultados indican que la cepa *Pseudomonas 42P4* posee potencial para promover el enraizamiento de *V. vinifera*. Esta cepa PGPR nativa podría utilizarse como una herramienta sustentable para la producción de barbechos de *V. vinifera* en los viveros, evitando el uso de productos de síntesis.

## **AISLAMIENTO Y SELECCIÓN *IN VITRO* DE ENDÓFITOS BACTERIANOS DE GARBANZO CON EFECTO ANTAGÓNICO SOBRE *Ascochyta rabiei*, AGENTE CAUSAL DE LA RABIA DEL GARBANZO**

Florencia Sardo (1), Mariela Monteoliva (2), Lucio Valetti (1)\*

(1) IPAVE-CIAP-INTA, UFYMA. Córdoba, Argentina; (2) IFRGV-CIAP-INTA, UDEA. Córdoba, Argentina.

\* valetti.lucio@inta.gob.ar

Los patógenos fúngicos son una de las principales causas de enfermedades de las plantas. La rabia del garbanzo, producida por el hongo *Ascochyta rabiei*, se ha convertido en una de las principales limitantes sanitarias para el cultivo llegando a producir pérdidas de hasta un 100% en condiciones predisponentes. Los agroquímicos juegan un rol significativo en el manejo de la enfermedad; sin embargo, el uso intensivo de ellos contribuye al aumento del nivel de contaminación en suelo y agua, y producen un efecto adverso sobre la calidad de los alimentos y la salud humana, reduciendo así la sustentabilidad agrícola. Actualmente no se disponen de insumos biológicos para su control. El objetivo de este trabajo fue aislar y evaluar el efecto antagónico de bacterias endófitas de garbanzo sobre *A. rabiei*.

Se realizaron aislamientos bacterianos de hoja y raíz de plantas de garbanzo variedad Chañarito S-156. El tejido vegetal esterilizado superficialmente se cortó y se homogenizó en un mortero con solución fisiológica. Diluciones de esta solución se sembraron en placas de Petri con medio TSA y fueron incubadas a 28°C durante 5 días. Las bacterias provenientes de colonias con diferente morfología fueron evaluadas en su capacidad antagónica por enfrentamiento en placas duales y por el efecto de sus metabolitos. Para el primero se colocaron 4 gotas de 10 µl de las bacterias crecidas en TSB líquido a 4 cm del centro de la placa de Petri conteniendo PDA y luego, en el centro de cada placa, se colocó un disco de 5 mm de micelio de *A. rabiei* en activo crecimiento. Para evaluar el efecto de los metabolitos, el cultivo bacteriano se centrifugó y esterilizó con filtros de 0,2 µm. Luego, el sobrenadante estéril se adicionó al medio PDA (10% v/v) donde se hizo crecer al patógeno. Las cajas de Petri se incubaron a 21 ± 2 ° C (fotoperiodo 12 h luz blanca/negra) durante 20 días. El diámetro de la colonia se midió cada 5 días y a los 15 días se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radical (PIC) según la fórmula:  $PIC = (R1 - R2) / R1 \times 100$ , donde R1 es el radio del patógeno testigo y R2 es el radio del patógeno en enfrentamiento. Para cada tratamiento se realizaron 3 repeticiones. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante ANAVA y las medias se compararon utilizando el test de DGC ( $p < 0,05$ ).

Se obtuvieron un total de 22 aislamientos de los cuales 8 provenían de la hoja (FH) y 18 de raíz (FR). Los aislamientos FH3, FR9, FH4, FR16, FR12, FR5, y FH1 presentaron PIC mayores al 70% en placas duales, mientras que solo los cultivos filtrados de los aislamientos FR2 y FH1 mostraron un efecto antagónico importante alcanzando valores de 83,27 y 82,30% de PIC, respectivamente.

A partir de estos resultados se concluye que estas bacterias poseen potencial como agente biocontrolador de *A. rabiei*, lo cual motiva a continuar el estudio de la interacción entre dichos microorganismos con ensayos *in vitro* e invernadero.

## ANÁLISIS DE LA SECUENCIA GENÓMICA DE *Bacillus thuringiensis* serovar *darmstadiensis* INTA Mo14-4, UNA CEPA ARGENTINA CON ACTIVIDAD NEMATICIDA

Leopoldo Palma (2,4), Bárbara Ghiglione (3,4), Melisa Pérez (1), Augusto Salas (1,4), Marcelo Berretta (1,4), Diego Sauka (1,4)\*

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB), Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB), Buenos Aires, Argentina. (4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

\* sauka.diego@inta.gob.ar

*Bacillus thuringiensis* es una bacteria gram positiva que produce durante la esporulación uno o más cuerpos parasporales cristalinos proteínicos responsables de su actividad letal para diversos invertebrados (artrópodos y algunos nematodos). Actúan previa ingestión por parte del huésped, resultando en su intoxicación, daño intestinal y consiguiente muerte. La cepa argentina INTA Mo14-4 perteneciente al serovar *darmstadiensis* produce un cristal bipiramidal y una inclusión en forma de barra, compuestos por proteínas de 130, 60 y 40 kDa. Bioensayos realizados con cultivos esporulados de esta cepa mostraron niveles altos de toxicidad para el nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus*. A pesar de su importancia en la agricultura y salud humana, los estudios realizados con cepas de *B. thuringiensis* nematicidas son actualmente escasos, siendo también limitada la información asociada a sus secuencias genómicas. El objetivo de este trabajo fue secuenciar y analizar el genoma de INTA Mo14-4, focalizando el estudio en la identificación de genes asociados a factores de virulencia.

La secuenciación de genoma completo utilizando la plataforma Illumina se llevó a cabo en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (Texcoco, México). Para el ensamblado de las lecturas se empleó el software CLC Genomic Workbench 21.0.3, y para la anotación de secuencias codificantes (CDs) el servidor RAST. La integridad del ensamblaje se evaluó con BUSCO utilizando el conjunto de datos del linaje Bacillales de ortólogos conservados de una sola copia.

En cuanto a la secuenciación genómica, tras el ensamblaje, se obtuvieron 261 *contigs* con un tamaño total de 6.403.763 pb y un porcentaje de G+C de 35,1%, representando un 99,8% de completitud del genoma. La anotación permitió delimitar 6.986 CDs de entre las cuales una, mostró un 99% de identidad con la proteína nematicida Cry5Ba1. Otras dos CDs mostraron homología con las proteínas Cry21Aa1 y Cry65Aa1. Las proteínas Cry5Ba1 y Cry21Aa1 se han asociado con toxicidad para ciertos nematodos mientras que para Cry65Aa1, se ha descrito ausencia de actividad contra insectos y nematodos.

Se aportan datos para desarrollos tecnológicos futuros destinados tanto a la investigación como al diseño de nuevos bionematicidas bacterianos. El rol de las proteínas homólogas a Cry5Ba1 y Cry21Aa1, como responsables de la actividad nematicida de la cepa INTA Mo14-4, queda pendiente de comprobación.

## PROTEÍNAS BACTERIANAS INDUCIBLES POR ESTRÉS Y SU POTENCIAL APLICACIÓN BIOTECNOLÓGICA

Nicolás Lencina, Mariana Demarchi, Valeria Casse, Natalia Gottig,  
Jorgelina Ottado y Betiana Garavaglia\*  
Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Rosario, Argentina  
\*garavaglia@ibr-conicet.gov.ar

La microbiología aplicada al agro, ofrece ventajas metodológicas que posibilitan el aumento en los rendimientos, permiten la producción en zonas marginales, reducen los costos para los productores y lo más importante, hacen sustentable la práctica agrícola. La utilización de bacterias de los géneros *Rhizobium* spp. y *Bradyrhizobium* spp., fijadoras de nitrógeno, establecen una relación simbiótica con la planta generando nódulos en las raíces de las mismas. Sin embargo, durante la manipulación de los inoculantes, específicamente al momento de llevar a cabo el proceso de inoculación de las semillas, las bacterias sufren un importante estrés por falta de agua.

A partir del conocimiento generado del estudio de proteínas de respuesta general a estrés de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc), Xac0100 y Xac4007, capaces de favorecer la viabilidad bacteriana frente a condiciones de desecación, se propuso considerar su uso y el de otras proteínas recombinantes pertenecientes a esta familia para su aplicación en inoculantes a base de *Bradyrhizobium* spp. a fin de estudiar una estrategia para aumentar la viabilidad bacteriana y/o su capacidad de nodulación.

Para este trabajo, se utilizaron las proteínas Xac0100 y Bsl2407, las cuales mostraron buenos niveles de expresión y solubilidad, obteniéndose 40 y 25 mg de proteína/L de cultivo inducido, respectivamente. Se siguieron dos protocolos de purificación, uno por afinidad y otro por enriquecimiento por tratamiento térmico. Mediante el primero se logró obtener las proteínas 10 veces más concentradas que el segundo con un rendimiento de 13 mg/mL para Xac0100 y 5 mg/mL para Bsl2407. Para todos los ensayos realizados, las proteínas recombinantes fueron utilizadas en una concentración final de 5  $\mu$ M. Se evaluaron inoculantes de uso comercial y cultivos de *B. japonicum* E109 crecidos en condiciones de laboratorio. Respecto al número de unidades formadoras de colonias (UFC) recuperadas a partir de semillas inoculadas, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. Sin embargo, al utilizar las proteínas recombinantes como suplementos proteicos en ensayos de inoculación con inoculante comercial, los resultados obtenidos fueron positivos al usar Bsl2407. Respecto a ello, se obtuvieron resultados prometedores en cuanto a número de nódulos, peso fresco y peso seco de nódulos por planta. Al realizar el mismo experimento con *B. japonicum* E109 crecido en condiciones de laboratorio, se observó un aumento significativo en el número de nódulos por planta respecto a lo obtenido al utilizar inoculante comercial. Además, las plantas de soja suplementadas con Xac0100, mostraron una mejora en el peso seco de la parte aérea respecto al control.

Estos ensayos demuestran que, tanto Xac0100 como Bsl2407 fueron capaces de favorecer parámetros que permiten evaluar la eficiencia simbiótica existente entre *B. japonicum* y plantas de soja, impactando positivamente en el crecimiento vegetal.

## RESTAURACIÓN Y REHABILITACIÓN DE PASTIZALES ARBUSTIFICADOS DEL CHACO SEMIÁRIDO. EFECTOS EN LA ACTIVIDAD MICROBIANA DEL SUELO

Analia Anriquez\*, Luciana Agüero, José Delgado, Juan Silberman  
Facultad de Agronomía y Agroindustrias Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago del Estero, Argentina.  
\* ananriquez@hotmail.com

En la región chaqueña, una de las alternativas sustentables que se plantean para el manejo convencional pecuario, es la restauración y rehabilitación de los pastizales arbustificados con rolados selectivos, cambios en el régimen de perturbaciones naturales (fuego prescripto) y siembras de pasturas adaptadas. Estas prácticas tienen como objetivos proporcionar a los pastizales su potencial forrajero, mantener la biodiversidad, y evitar la degradación del suelo. Para ello se eliminan las especies invasoras mediante rolado selectivo, se reintroducen las perturbaciones naturales (incendios periódicos) y se siembran pasturas exóticas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de las prácticas de restauración y rehabilitación en la actividad microbiana, en el C y en el N del suelo.

El estudio fue en la subregión Chaco semiárido (28° 3' S y 64° 15' O), con suelo Haplustol típico. El ensayo se estableció en un sitio ecológico bajo ocupado por un pastizal arbustificado. En diseño completamente aleatorizado los tratamientos fueron: T- pastizal arbustificado (como testigo); R- restauración (rolado + clausura + fuego prescripto), RG- rehabilitación con Gatton panic (rolado + siembra de *Megathyrsus maximus* var. *maximus*) y RB- rehabilitación con Buffel Texas (rolado + siembra de *Cenchrus ciliaris* var. *Texas*). Se evaluó: respiración basal (Rb), Carbono potencialmente mineralizable (C<sub>0</sub>), tasa de mineralización (kc), nitrógeno potencialmente mineralizable (Nan), C y N del suelo. El C del suelo no estuvo influenciado por los tratamientos, mientras que el N fue mayor en el tratamiento RG, respecto de T. Los dos tratamientos de rehabilitación aumentaron significativamente RE y Nan respecto de T mientras que C<sub>0</sub> y kc se mantuvieron sin variaciones significativas. Se encontró correlación negativa (-0.6) entre Nan y la relación C/N. Esto indicaría que los aportes de residuos de mayor labilidad por parte de las pasturas favorecen el aumento de la fracción del nitrógeno susceptible de ser mineralizado y la actividad microbiana del suelo relacionada al ciclo biogeoquímico del N. En el tratamiento de restauración, las variables evaluadas no presentaron diferencias significativas, respecto de T.

Estos resultados ponen en evidencia que el manejo y la tecnología usada para restaurar y rehabilitar pastizales de los sitios bajos arbustificados presentan bajo impacto en el funcionamiento de las comunidades microbianas del suelo. Sin embargo, aún resta afianzar los conocimientos generados y resolver los interrogantes que se plantean con respecto al impacto que genera el manejo ganadero, para garantizar un manejo sustentable más confiable.

## CULTIVOS DE COBERTURA EN SANTIAGO DEL ESTERO: IMPACTO EN LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS DEL SUELO

Juan Silberman (1)\*, Juan Caro (1), Analía Anriquez (1), Salvador Prieto (1, 2), Erika Raña (1)  
1 Facultad de Agronomía y Agroindustrias Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago del Estero, Argentina. 2 Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. E.E.A Santiago del Estero  
\* juan.silberman@gmail.com

A nivel mundial es reconocido que los cultivos de cobertura tienen gran potencial para mejorar la salud del suelo y mitigar las consecuencias de la degradación a través de modificaciones positivas en el microbioma del suelo. Sin embargo, en Santiago del Estero (SDE) son escasos los antecedentes en la temática. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de diferentes cultivos de cobertura sobre las actividades enzimáticas del suelo.

El ensayo está ubicado en la localidad Isca Yacu (Noroeste de SDE- 27°06´S, 64°39´W). Los tratamientos fueron: Barbecho químico (BQ), Centeno (*Secale cereale*) como cultivo de cobertura (C), Vicia (*Vicia villosa*) como cultivo de cobertura (V) y Mezcla (25% de Centeno y 75% Vicia) (M). El muestreo se realizó en diciembre de 2020 a dos profundidades de suelo (0-5 cm y 5-20 cm). Se cuantificó la actividad deshidrogenasa,  $\beta$ -glucosidasa y ureasa mediante espectrofotometría.

Los resultados mostraron mayor actividad en la primera profundidad en todas las enzimas lo cual coincide con diversos autores quienes informaron que la mayor actividad microbiana ocurre en la capa superior del suelo que está en íntimo contacto con la detritosfera. En deshidrogenasa, se registraron diferencias significativas entre tratamientos (BQ > C > M > V) en la primera profundidad. Esto sugiere que los procesos oxidativos del suelo son mayores con barbecho químico. Los tratamientos C y M superaron en actividad  $\beta$ -glucosidasa a lo demás tratamientos en la profundidad 0-20 cm. Esto puede atribuirse a la mayor necromasa carbonada de C y M respecto de los demás tratamientos. En  $\beta$ -glucosidasa, el hecho de haber encontrado diferencias significativas sólo en la segunda profundidad (5-20 cm) podría atribuirse a que el carbono soluble migra de la capa superior del suelo hacia la capa subyacente donde será utilizado como sustrato por  $\beta$ -glucosidasa. El tratamiento V superó a todos los tratamientos en actividad ureasa (0-5 cm) lo cual puede atribuirse al mayor contenido nitrogenado de la necromasa de Vicia que es utilizado como sustrato de la enzima ureasa.

Con base en los resultados se concluye que los cultivos de cobertura tienen un efecto positivo en las actividades enzimáticas. La dirección y magnitud de los cambios depende de la calidad de la necromasa de cada especie. Estos resultados se sumarán a la base de datos existente a los fines de responder a los interrogantes relacionados al impacto de los cultivos de cobertura en la sustentabilidad de los agroecosistemas de Santiago del Estero.

## EMPLEO DE INOCULANTES MIXTOS DE BACTERIAS LÁCTICAS CON CAPACIDAD BIOPRESERVADORA PARA ENSILAJE DE ALFALFA

María Emilia Agosto (1, 2), Lilia Cavaglieri (1, 2), Cecilia Dogi (1, 2)\*

(1) Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (2) CONICET. Argentina  
\* cdogi@exa.unrc.edu.ar

El ensilaje es un método económico de conservación de forrajes húmedos, utilizado para mejorar la conservación y disponibilidad de alimento en épocas críticas de producción. El objetivo fue aplicar cultivos mixtos de bacterias lácticas (BL) en ensilajes de alfalfa para mejorar la fermentación, la calidad microbiológica y la estabilidad aeróbica de los silos inoculados.

Estudios previos permitieron seleccionar BL en base a su capacidad de reducción del pH, inhibición de hongos toxicogénicos y bacterias patógenas. Se formularon 2 MIX: MIX1: *Lactobacillus plantarum* RC015; *L. plantarum* RC020 y *L. rhamnosus* RC007. MIX2: *Pediococcus acidilactici* RC002; *P. acidilactici* RC003 y *L. plantarum* RC018. Se armaron silos de 2 Kg de alfalfa picada en bolsas de polietileno y cerradas al vacío. Los silos fueron inoculados con el MIX1 o el MIX 2 ( $1 \times 10^6$  UFC/ml de cada cepa) o con solución fisiológica sola, para los silos controles. A los 90 días los silos fueron abiertos y se determinó pH, recuento de hongos y levaduras, aflatoxina B1 (AFB1) y ácidos grasos volátiles por HPLC. Los silos se dejaron expuestos al aire durante 10 días para medir la estabilidad aeróbica de los mismos. A los 100 días (10 días con exposición aeróbica) se midió pH y recuento de hongos y levaduras.

A los 90 días de ensilaje, los silos inoculados con ambos MIX mostraron una disminución del pH con respecto al control sin inocular, siendo este descenso ligeramente superior con el MIX1. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de ácido láctico entre los grupos controles e inoculados, sin embargo, se detectaron niveles de ácido acético significativamente diferentes entre los tratamientos, mostrando una concentración mayor con el MIX1. En ningún tratamiento se detectó ácido propiónico ni butírico. Los silos inoculados mostraron un menor recuento de levaduras y hongos toxicogénicos, como especies de *Aspergillus* y *Fusarium*, mostrando mayor capacidad inhibitoria el MIX1, sin embargo, no se detectaron niveles de AFB1 en ningún silo (control o inoculado).

Luego de la apertura del silo, la temperatura interna de los silos controles siempre estuvo más de dos grados por encima de la temperatura ambiente, no así en los silos inoculados donde se mantuvo igual a la temperatura ambiente. Este dato junto con un notorio incremento en el pH y en el recuento de hongos y levaduras, demuestran un deterioro aeróbico intensivo en los silos controles respecto de los inoculados.

La producción de ácido acético en niveles superiores por el MIX1 puede ser la responsable de mantener la estabilidad aeróbica ya que se sabe que este ácido inhibe a los principales degradadores aeróbicos del silo: hongos y levaduras. Este MIX tiene un gran potencial para ser utilizado como inculante en ensilado de alfalfa ya que mejora la fermentación, la calidad microbiológica y mantiene la estabilidad aeróbica en el silo.

**BIOPROSPECCIÓN DE BACTERIAS ENDÓFITAS DEL MANÍ Y SU ACTIVIDAD  
BIOCONTROLADORA DE *Tecaphora frezii*, AGENTE CAUSAL DEL CARBÓN**

María Verónica Bianco (1)\*, Juan Paredes (2), Carolina Dottori (2), Natalia Meneguzzi (2),  
Cinthia Conforto (2), Mariela Monteoliva (1), Lucio Valetti (2).

(1) IFRGV-CIAP-INTA, Ciudad de Córdoba, Argentina. (2) IPAVE-CIAP-INTA, Ciudad de Córdoba,  
Argentina.

bianco.maria@inta.gob.ar

El maní es considerado una importante leguminosa a nivel mundial. Argentina es la principal exportadora mundial de maní manufacturado de alta calidad, concentrándose el 95% de la producción en la provincia de Córdoba. El efecto negativo sobre los cultivos de un amplio rango de patógenos es ampliamente conocido. En particular aquellos que se encuentran en el suelo son difíciles de controlar mediante el uso de productos químicos al mismo tiempo que en muchos casos resultan en un alto impacto económico y ambiental. Por otro lado, el uso excesivo de fungicidas favorece la aparición de resistencia de patógenos a través del tiempo disminuyendo así su eficiencia. Estos antecedentes sumados a la baja rotación de los cultivos han intensificado la presencia de dichos patógenos agudizando las consecuencias en la merma de los rendimientos e imposibilitando realizar algunos cultivos en particular. La enfermedad causada por el hongo *Tecaphora frezii* es actualmente la de mayor importancia biológica y económica con una prevalencia del 100% en la provincia de Córdoba y causando reducciones de hasta el 50% del rendimiento. En los últimos años se observó un incremento progresivo en los niveles de incidencia e intensidad de la enfermedad contando con muy pocas alternativas de manejo hasta el momento.

Con el objetivo de contribuir a la generación de nuevos insumos biológicos para el control de *T. frezii*, se realizaron muestreos en 7 sitios geográficos de la provincia de Córdoba para generar un banco de bacterias endófitas de maní y posteriormente evaluar su potencial como agentes biocontroladores. Las bacterias endófitas se aislaron a partir de tejido de hojas de maní superficialmente esterilizadas. Se cuantificó el efecto antagónico de 46 cepas en placas duales de crecimiento. El desarrollo del micelio de *T. frezii* fue evaluado en presencia de cada uno de los aislamientos durante por un período de entre 11 y 13 días posteriores a la siembra de ambos microorganismos. Se seleccionaron 15 cepas provenientes de 5 sitios geográficos diferentes. 10 de ellas lograron reducir el desarrollo del micelio del hongo patógeno en al menos un 70% respecto al desarrollo de las placas control. Mientras que las cepas restantes inhibieron entre el 35 y 50% el desarrollo del patógeno *in vitro*. Posteriormente se evaluó el desarrollo del hongo patógeno en presencia de los sobrenadantes estériles de cultivo de 12 de los aislamientos más prometedores. Solo uno mostró un poder de inhibición del 84% del crecimiento *in vitro* del micelio mientras que los restantes lograron una inhibición cercana al 40%.

Como conclusión podemos mencionar que la mayoría de los aislamientos evaluados presentarían 2 o más mecanismos de biocontrol del fitopatógeno. Y solo una de las cepas aisladas controlaría a *T. frezii* mediante producción de metabolitos secundarios secretados al medio de cultivo. Se prevé continuar con la caracterización *in vivo* y bajo condiciones controladas de las cepas seleccionadas.

***Bacillus thuringiensis* Bt\_UNVM-84, UNA CEPA CORDOBESA CON ACTIVIDAD INSECTICIDA CONTRA *Anthonomous grandis* (Coleoptera: Curculionidae)**

Diego Sauka (1,6), Melisa Pérez (1), Antonela Marozzi (2) \*, Antonella Molla (3), Angelika Fiodor (4), Cecilia Peralta (5,6), Leopoldo Palma (5,6).

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Bariloche, Argentina. (3) FMC Argentina, Carlos Pellegrini 719, C1009 CABA. (4) Department of Microbiology, Faculty of Biology, University of Bialystok, 15-245 Bialystok, Poland. (5) Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB-CONICET), Universidad Nacional de Villa María, Argentina. (6) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. \*antomarozzi@gmail.com

*Bacillus thuringiensis* es una bacteria gram positiva capaz de producir durante la fase de esporulación unas inclusiones cristalinas de naturaleza proteínica, comúnmente conocidos como cristales paraesporales, con actividad tóxica específica contra distintas especies de insectos y algunos nematodos. Estos cristales actúan por ingestión, solubilizándose y activándose en el intestino medio del insecto susceptible, produciendo daños en el epitelio intestinal y la muerte. Esta propiedad ha hecho que *B. thuringiensis* sea actualmente la bacteria más utilizada en el control biológico de plagas en la agricultura, ya sea mediante la producción de bioinsecticidas o mediante la inclusión de los genes insecticidas en plantas transgénicas resistentes a los insectos. El objetivo de este trabajo fue realizar el aislamiento de *B. thuringiensis* autóctonos de la provincia de Córdoba y la caracterización de su actividad insecticida.

La cepa Bt\_UNVM-84 se aisló de muestras de suelo provenientes de la localidad de Oncativo, Córdoba. Esta cepa mostró las características típicas de una cepa de *B. thuringiensis* con colonias blancas mate y de bordes irregulares. Frotis teñidos con Coomassie mostraron bajo microscopio de campo claro que esta cepa era capaz de producir cristales paraesporales amorfos a esféricos, los cuales se confirmaron posteriormente mediante análisis en microscopio electrónico de barrido. El análisis preliminar de presencia de genes insecticidas fue realizado por PCR con cebadores degenerados para la amplificación de genes de tipo *cry* mostrando la amplificación de un amplicón de 1500 pares de bases comparable al del control positivo, proveniente de la cepa HD1 perteneciente al serovar *kurstaki*. Bioensayos realizados con larvas neonatas de picudo del algodónero [*Anthonomous grandis* (Coleoptera: Curculionidae)], demostraron que la cepa Bt\_UNVM-84 producía un alto porcentaje de mortalidad cercano al 92%.

Estos resultados son más que alentadores ya que podrían utilizarse para la construcción de nuevas variedades de algodón Bt resistentes a este insecto plaga y han motivado la secuenciación de su genoma, el cual se encuentra actualmente en realización en el servicio de genómica de INTA Castelar.

***Bacillus* sp. 123, UNA CEPA AISLADA DE SUELOS AGRÍCOLAS CON POTENCIAL PARA DEGRADAR DIFERENTES ANTIBIÓTICOS**

Diego Sauka (1), Vanessa Areco (2,3), Cecilia Peralta (2,3), Antonela Marozzi (4), Eleodoro E. Del Valle (5), Leopoldo Palma (2,3)\*

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB-CONICET), Universidad Nacional de Villa María, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (4) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Bariloche, Argentina. (5) ICIagro Litoral, Universidad Nacional del Litoral, CONICET Facultad de Ciencias Agrarias, Esperanza, Santa Fe, Argentina.

\*palma.leopoldo@gmail.com

Las especies pertenecientes al género *Bacillus* poseen diferentes propiedades naturales que van desde la síntesis de diferentes toxinas hasta la producción de varias proteínas y enzimas con aplicaciones biotecnológicas. Muchos de los genes que las codifican se encuentran localizados en el ADN extracromosomal o plasmídico, generalmente acompañados de otros factores de virulencia tales como genes de resistencia a antibióticos. Estos plásmidos son transferibles pudiendo alcanzar a especies receptoras relacionadas mediante transferencia horizontal. Los genes de resistencia a antibióticos son imprescindibles para hacer frente a los mismos por parte de las bacterias patógenas, pero también son frecuentemente encontrados en bacterias no patógenas aisladas desde diferentes ecosistemas. Esta propiedad es muy interesante ya que brinda la posibilidad de que sean utilizadas en el desarrollo de nuevas herramientas aplicables a la biorremediación de suelos o aguas contaminadas con antibióticos, especialmente aquellas provenientes de hospitales y establecimientos lecheros o productores de ganado. El objetivo de este trabajo fue realizar la caracterización microbiológica y secuenciación genómica de la cepa de *Bacillus* sp. 123, aislada de una muestra de suelo proveniente de un lote agrícola de la localidad de O`Higgins, Buenos Aires.

El análisis bajo microscopio de campo claro mostró que la cepa 123 se corresponde a un bacilo gram-positivo a gram-positivo-variable con producción de espora de resistencia terminal deformante, una característica morfológica que fue posteriormente confirmada por análisis en microscopio electrónico de barrido. Su secuencia genómica mostró un tamaño total de 5.139.413 bp y un porcentaje de G+C de 36.1%. Tanto el análisis de su ADN ribosomal 16S como los cálculos ANI (porcentaje promedio de identidad nucleotídica) mostraron que la cepa 123 correspondería a una nueva especie del género *Bacillus*. La anotación de su genoma fue realizada con el servidor RAST y produjo 5671 secuencias codificantes o CDs de entre los cuales se encontraron genes relacionados a la degradación de los siguientes antibióticos: Penicilina, Vancomicina B, Zwittermicina A, Fosfomicina, Fosmidomicina, Tetraciclina, Cloranfenicol, y Novobiocina.

Ensayos preliminares de resistencia a antibióticos mediante pruebas de difusión en agar Mueller-Hinton se encuentran en realización con el objeto de determinar el verdadero potencial biorremediador de la cepa 123.

## APLICACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO COMO ESTRATEGIA SUSTENTABLE PARA MITIGAR LOS EFECTOS ADVERSOS DEL ESTRÉS HÍDRICO Y DÉFICIT NUTRICIONAL DE FÓSFORO EN EL CULTIVO DE MANÍ

Liliana Ludueña (1)\*, Ana Furlan (1), Valeria Oggero (1), Maria S. Anzuay (1), Eliana Bianucci (1), Stella Castro (1), Tania Taurian (1)

(1) Instituto de Investigaciones Agrobiotecnológicas (INIAB, CONICET-UNRC)

\*lludueña@exa.unrc.edu.ar

En la provincia de Córdoba el cultivo de maní tiene un alto impacto económico y algunas zonas agrícolas asociadas a su producción presentan en el suelo bajo contenido de nitrógeno (N) y fósforo (P) a lo que se suma el estrés hídrico (EH). En dichos sistemas, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal ejercen efectos benéficos sobre las plantas, entre los que se destacan la fijación biológica de N<sub>2</sub> (FBN) y la solubilización de fosfatos. La planta de maní satisface la demanda de N por asociación con el microsimbionte *Bradyrhizobium* sp. Por su parte las bacterias con capacidad de solubilizar fosfato (BSP) satisfacen la demanda de P y aumentan la eficiencia en la FBN. En EH se ha demostrado una disminución de la FBN con impactos importantes en el rendimiento del cultivo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de BSP y el microsimbionte en plantas de maní crecidas en presencia de los estreses combinados déficit de P e hídrico, sobre el crecimiento y la eficiencia en la FBN.

Para ello, plántulas de maní fueron crecidas en invernáculo con condiciones de luz y temperatura controladas. Todas las plantas fueron inoculadas con la cepa fijadora de N<sub>2</sub> *Bradyrhizobium* sp. SEMIA6144 (10<sup>8</sup> ufc/ml) y con las BSP *Serratia* sp. S119 o *Enterobacter* sp. J49 (10<sup>9</sup> ufc/ml) suplementando el sustrato con una fuente insoluble de P (Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 16 mM). Las plantas control fueron: (1) sin agregado de P, (2) fertilizadas con P asimilable (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 20 mM), (3) suplementadas con P insoluble. El EH se realizó a los 35 días post-siembra hasta la aparición de síntomas de marchitamiento en las plantas. Las plantas control para el tratamiento EH fueron regadas a capacidad de campo. Al momento de la cosecha se determinó longitud y peso seco de raíz (LR, PSR) y de parte aérea (LA, PSA), contenido de P (CP) y como parámetros de eficiencia de FBN se determinó número (NN), peso seco de nódulos (PSN) y contenido de N (CN).

Fue posible observar que en las plantas crecidas en condiciones de déficit de P e inoculadas con J49 hubo un aumento en la LR respecto a las plantas sin inocular o inoculadas con la cepa S119, sin diferencias en las variables LA, PSA y PSR entre los distintos tratamientos. En esta condición, también se observó que las plantas de maní inoculadas con las BSP tuvieron un NN y PSN intermedio entre aquellas que crecieron con P asimilable y las que tenían P insoluble. Estas plantas mostraron también un mayor CN respecto a las plantas sin fertilizar. Por su parte, las plantas inoculadas con S119 mostraron un incremento significativo del CP en sus tejidos. Por otro lado, en las plantas crecidas en ambas condiciones de estrés (déficit de P y EH) en todos los tratamientos no fue posible observar diferencias significativas en los parámetros de crecimiento analizados y en el CN y CP.

En conclusión, la inoculación con las cepas BSP en las plantas de maní crecidas con déficit de P mejora el crecimiento radical, la nodulación y su estado nutricional.

**SESGO EN EL USO DE CODONES DEL PLASMIDOMA CRÍPTICO DE *Sinorhizobium meliloti*, SIMBIONTE DE ALFALFA**

Abril L. Pagnutti (1), Mauricio J. Lozano (1), Antonio Lagares (1)\*

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM) – UNLP – CONICET CCT– La Plata; La Plata, Argentina

\* lagares@biol.unlp.edu.ar

Los organismos unicelulares como las bacterias están directamente expuestos al ambiente, y a lo largo de la evolución se han adaptado a tolerar cambios repentinos del entorno químico y físico (pH, temperatura, otros). Así, los pequeños genomas bacterianos (de unas pocas megabases) no sólo codifican información para cumplir con funciones basales, sino también información vinculada a responder a aquellos cambios que tienen lugar con más frecuencia en el medio habitado. En tal contexto existe un compromiso entre la cantidad de información, la utilidad de la misma y su costo de mantenimiento. Una estrategia frecuentemente utilizada por las bacterias para manejar dichas variables es la partición de la información genética en distintos compartimentos genómicos, donde los cromosomas codifican funciones basales, mientras la información adaptativa es muchas veces codificada en plásmidos, que en su conjunto forman para la comunidad un recurso compartido por transferencia horizontal: el plasmidoma.

En este trabajo estudiamos cambios genómicos adaptativos analizando sesgos en el uso de codones sinónimos, dado que el uso del lenguaje genético se relaciona con la demanda y calidad de los productos traducidos. Para analizar sesgos en el uso de codones, en nuestro laboratorio utilizamos como sistema modelo a la bacteria *Sinorhizobium meliloti*, portadora de plásmidos de distintos tamaños y de ubicidades diferentes.

Evaluamos, con distintas herramientas informáticas, el uso de codones en plásmidos accesorios de *S. meliloti* y en otras cinco bacterias Gram-negativas todas asociadas a plantas de alfalfa. En primera instancia realizamos distintos análisis de correspondencia a partir las frecuencias de uso de codones y, como habíamos observado en *S. meliloti*, la información plasmídica mostró valores modales del uso de codones que resultaron diferentes a los de los respectivos cromosomas, y en la mayoría de los casos también menos adaptados al aparato traduccional.

Sin embargo, el análisis del número efectivo de codones (ENC) y del índice de adaptación de codones (CAI) en genes individuales del plasmidoma de *S. meliloti* permitió identificar varios genes con una destacada adaptación en su uso de codones (ej. genes que incluyen al de un factor de transcripción, una S-hidroximetil-glutation deshidrogenasa / alcohol dehidrogenasa de clase III, una isocitrato deshidrogenasa NADP-dependiente y varias proteínas hipotéticas). Atendiendo a la característica excepcional del uso de codones de estos genes, los resultados obtenidos permitieron identificar un contenido informacional dentro del plasmidoma que podrá ser investigado en su ubicidad (presencia de ortólogos en otras bacterias), nivel y condición de expresión, y eventual impacto en el fenotipo (*fitness*) de los rizobios en vida libre y en simbiosis. La misma estrategia informática podrá ser utilizada para identificar genes potencialmente importantes dentro de los plasmidomas de otras especies bacterianas.

## EL ESTUDIO DE AISLAMIENTOS AUTÓCTONOS REVELA UN NUEVO LINAJE DEL COMPLEJO DE ESPECIES *Metarhizium anisopliae*

Natalia Adriani (1), Julieta Posadas (1), Ricardo Salvador (1), Marcelo Berretta (1,2)\*.

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

\* berretta.marcelo@inta.gob.ar

El género *Metarhizium* comprende un grupo ubicuo de hongos entomopatógenos productores de conidios de coloración verde a marrón. Actúan como reguladores de las poblaciones de insectos de distintos órdenes, y varios han sido desarrollados como agentes de control biológico de plagas agrícolas y vectores de importancia sanitaria. Más recientemente se ha reportado la capacidad de estos hongos de colonizar plantas con propiedades PGPM y de protección frente a herbivoría por plagas. La diversidad de especies de *Metarhizium* se ha evidenciado con marcadores moleculares, dado que muchas especies presentan convergencia morfológica. En particular, *M. anisopliae*, un biocontrolador ampliamente difundido, se considera taxonómicamente como un complejo de especies.

El objetivo del presente trabajo consistió en relevar la diversidad genética de un grupo de cepas autóctonas identificadas morfológicamente como *M. anisopliae* s.l., y evaluar su posible asignación de clado, dentro del complejo de especies *M. anisopliae*.

Se analizaron siete cepas (entre aislamientos obtenidos de suelo y de hormiga, *Acromyrmex lundii*) de la colección de hongos entomopatógenos de IMYZA-INTA. En estudios previos se determinó que de entre las cepas analizadas, resultaron patógenas en insectos: la cepa M18, en *A. lundii*, la cepa M48, en mosca brava (*Stomoxys calcitrans*), y las cepas M20 y M50, en picudo del algodónero (*Anthonomus grandis*). Asimismo, M20 evidenció capacidad PGPM en tomate. Se secuenciaron los loci ITS (*barcode* primario),  $\beta$ -tubulina (parcial) y la secuencia intergénica MzIGS3. Este último marcador fue desarrollado por otros autores a partir de la disponibilidad de los genomas completos de dos miembros del complejo *M. anisopliae*, y provee por sí solo la información para discriminar las especies establecidas para el complejo. Las secuencias de referencia de dichas especies fueron obtenidas del GenBank. Los análisis filogenéticos se realizaron con el programa MEGA (versión 7), utilizando los métodos de Máxima Verosimilitud (MV) y Máxima Parsimonia (MP).

Las secuencias de  $\beta$ -tubulina e ITS de las cepas nativas representaron un haplotipo único y dos haplotipos, respectivamente. Por su parte, la amplificación de la región intergénica MzIGS3 evidenció la sintenia conservada de los genes flanqueantes en las cepas nativas, confirmando su identidad como miembros del complejo *M. anisopliae*. El análisis filogenético reunió dichas cepas en un clado separado, asociado al clado definido como PARB (conformado por las especies *M. pingshaense*, *M. anisopliae*, *M. robertsii* y *M. brunneum*).

El marcador MzIGS3 resultó altamente informativo y podría usarse en un relevamiento masivo para la caracterización preliminar de la colección. Para evaluar una propuesta de asignación de especie nueva a las cepas analizadas, resta extender el análisis con los marcadores RPB1, RPB2 y TEF, utilizados como estándares para estudios filogenéticos en hongos.

## EFFECTO DE INOCULANTES MIXTOS SOBRE LA CALIDAD NUTRICIONAL Y MICROBIOLÓGICA DE ENSILAJES DE MAÍZ

María Emilia Agosto (1,2), Lilia Cavaglieri (1,2), Cecilia Dogi (1,2)\*

(1) Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (2) CONICET. Argentina

\* cdogi@exa.unrc.edu.ar

El ensilaje permite almacenar alimento en tiempos de cosecha conservando calidad y palatabilidad, a través de la fermentación anaerobia de carbohidratos solubles presentes en el forraje. El maíz es importante como forraje para ensilar por su productividad, riqueza en energía, conservación y utilización de los animales. El objetivo fue aplicar cultivos mixtos de bacterias lácticas (BL) en ensilajes de maíz para cumplir con diferentes propósitos: mejorar la fermentación y la digestibilidad del material ensilado e inhibir microorganismos indeseables en este ecosistema

Estudios previos permitieron seleccionar BL en base a su capacidad de reducción del pH, inhibición de hongos toxicogénicos y bacterias patógenas. Se formularon 2 MIX, MIX1: *Lactobacillus plantarum* RC015; *L. plantarum* RC020 y *L. rhamnosus* RC007; MIX2: *Pediococcus acidilactici* RC002; *P. acidilactici* RC003 y *L. plantarum* RC018. Se armaron silos de 2 kg de maíz picado en bolsas de polietileno y cerradas al vacío. Los silos fueron inoculados con el MIX1 o el MIX2 ( $1 \times 10^6$  UFC/ml de cada cepa) o con solución fisiológica sola (control). A los días 1, 30 y 90 post ensilaje se tomaron muestras de cada silo para recuento de hongos y levaduras y para determinación del pH. A los 90 días además se analizó porcentaje de materia seca, fibra detergente neutra y fibra detergente ácida. Luego de los 90 días los silos fueron expuestos al aire durante 10 días para medir la estabilidad aeróbica de los mismos.

Los silos inoculados con ambos MIX mostraron una disminución del pH con respecto al control a lo largo de todo el ensayo, logrando una marcada diferencia a las 24 h, tiempo en el cual se observó que ambos MIX inhibieron completamente el desarrollo de hongos filamentosos y disminuyeron el recuento de levaduras, lo que se mantuvo hasta el día 30 post ensilaje.

Se observó una disminución de FDN (parámetro relacionado negativamente con la ingestión de materia seca) en minisilos inoculados con MIX2 y una disminución de FDA (parámetro relacionado con la fracción no digestible del forraje) en presencia de ambos MIX, siendo significativamente más notoria con el MIX2.

Luego de la exposición aeróbica de los silos, el pH aumentó significativamente en los silos controles, alcanzando un valor cercano a 7 a diferencia de los silos inoculados que lo mantuvieron por debajo de 5. Se observó un aumento en la temperatura interna de los silos controles a las 96 h, mientras que los grupos inoculados con ambos MIX la mantuvieron hasta las 144 h. Los minisilos inoculados con MIX2 mostraron un recuento de hongos filamentosos significativamente menor.

El MIX2 muestra potencial como inoculante para maíz debido a que mejora la digestibilidad, generando forrajes más aprovechables para el animal y es capaz de mantener la estabilidad aeróbica luego de la apertura del silo, manteniendo silajes de buena calidad microbiológica.

## HACIA LA REUTILIZACIÓN SUSTENTABLE DE RESIDUOS AVÍCOLAS: EVALUACIÓN INTEGRADA COMO ENMIENDA ORGÁNICA

Natalia Pin Viso (1,2,3), Pedro Rizzo (4), Brian Young (4), Emmanuel Gabioud (5), Patricia Bres (4), Nicolás Riera (4), Lina Merino (3), Marisa Farber\* (1,2,3), Diana Crespo (2,4)

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, IABiMo, INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad Nacional de Hurlingham, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (4) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (5) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Estación Experimental Agropecuaria Paraná, Oro Verde, Entre Ríos, Argentina.

\*farber.marisa@inta.gob.ar

Los residuos de la producción avícola (guano de gallinas ponedoras y cama de pollos de engorde) se han utilizado como fertilizantes o enmiendas orgánicas para disminuir el impacto y degradación que causan en los suelos la aplicación de fertilizantes químicos a largo plazo. Sin embargo, pocos estudios han evaluado condiciones de campo contrastantes donde estos residuos se hayan utilizado durante períodos prolongados de tiempo en sistemas de cultivos agrícolas.

En este estudio se utilizaron parámetros fisicoquímicos, *metabarcoding* del gen ARNr 16S e índices de ecotoxicidad para caracterizar el guano de gallinas ponedoras y la cama de pollos de engorde y examinar el efecto de su aplicación en suelos agrícolas durante un período de 10 años (campos sometidos a rotación trigo/soja-maíz, utilizándose tres tratamientos: suelo control sin enmienda añadida, suelo + guano de ponedoras, suelo + cama de pollos).

Los residuos avícolas mostraron altas concentraciones de nutrientes (N y P) y una alta conductividad eléctrica, lo que provocó efectos fitotóxicos al evaluar tanto la germinación de semillas como el alargamiento de la radícula de cinco especies vegetales (lechuga: *Lactuca sativa* variedad "Gallega", rabanito: *Raphanus sativus* variedad "Puntas blancas", zucchini: *Cucurbita maxima* variedad "Veronés", rúcula: *Eruca sativa* y achicoria: *Cichorium intybus*) en presencia de extractos acuosos de los residuos avícolas. Las comunidades bacterianas presentes en los residuos estuvieron dominadas por miembros típicos del tracto gastrointestinal de las aves, destacando la presencia de familias de bacterias patógenas (Xanthomonadaceae, Clostridiales, Staphylococcaceae, Flavobacteriaceae, Sphingobacteriaceae). Los suelos sometidos a aplicaciones de guano de ponedoras mostraron valores estadísticamente más altos de fósforo total y fósforo extraíble respecto del suelo control, aumentando el riesgo de eutrofización. Por su parte, las comunidades bacterianas de los suelos sometidos a aplicaciones prolongadas de residuos avícolas permanecieron dominadas por familias de bacterias involucradas en los ciclos biogeoquímicos de los nutrientes y en la promoción del crecimiento de las plantas (Gemmatimonadaceae, Sphingomonadaceae, Nitrosomonadaceae, Planctomycetaceae, Nitrospiraceae), destacando la capacidad de resiliencia del suelo. Sin embargo, no debe descartarse la persistencia de bacterias de importancia sanitaria.

En conjunto, nuestro trabajo contribuye a comprender los efectos de las prácticas agrícolas locales y, por lo tanto, al apoyo de la adopción de procesos de biotransformación previos a la reutilización de los residuos, de acuerdo con las pautas de sostenibilidad ambiental.

## EMPLEO DEL GEN *pqqE* COMO MARCADOR MOLECULAR DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO EN CULTIVOS BACTERIANOS MIXTOS

María Soledad Anzuay\*, Mario Hernán Chiatti, Ariana Belén Intelangelo, Liliana Ludueña, Jorge Guillermo Angelini, Tania Taurian  
Instituto de Investigaciones Agrobiotecnológicas (INIAB, CONICET-UNRC)  
\*manzuay@exa.unrc.edu.com.ar

En los suelos agrícolas argentinos se han detectado valores bajos de fósforo (P), lo cuál podría ser limitante para la producción de cultivos. Un componente importante de los suelos es la presencia de bacterias capaces de ejercer efectos beneficiosos para el crecimiento de las plantas. Entre estos efectos se incluye la solubilización de fosfatos que aporta P a las plantas. Este nutriente puede ser liberado de los compuestos fosforados inorgánicos por la liberación de ácidos orgánicos, tales como el ácido glucónico. Este mecanismo ha sido descrito en bacterias Gram negativas las cuales producen el ácido glucónico por acción de la holoenzima glucosa deshidrogenasa (GDH)-PQQ. La función del cofactor PQQ en esta vía oxidativa es esencial para la solubilización de fosfato. Resultados previos del laboratorio indicaron que un gran número de bacterias solubilizadoras de fosfato (BSP) Gram negativas nativas de la zona agrícola de Córdoba presentaban en su genoma el gen *pqqE*, uno de los genes involucrados en la biosíntesis de PQQ. Considerando estos resultados preliminares, el objetivo de este trabajo fue analizar este gen como marcador molecular de BSP en muestras mixtas de cultivos bacterianos.

Se analizaron bacterias nativas que fueron seleccionadas a partir de una colección disponible en el laboratorio en las cuales previamente había sido determinada la presencia o no del gen *pqqE* en su genoma: *Serratia* sp. S119 (*pqqE*+), *Enterobacter* sp. J33 (*pqqE*+), *Bacillus* sp. L55 (*pqqE*-) y *Pseudomonas* SS-ER-24 (*pqqE*+), y se incluyó la cepa comercial *P. fluorescens* PMT1 (*pqqE*+). Para analizar la amplificación de un fragmento del gen *pqqE* de las bacterias en cultivos bacterianos mixtos fueron analizadas todas las bacterias *pqqE*+ combinadas con la única cepa *pqqE*-. Los cultivos mixtos se realizaron haciendo crecer a las bacterias, en proporción 1:1, en medio líquido TY y la toma de muestra se realizó cuando las cepas alcanzaron fase de crecimiento exponencial. Previo a los ensayos de inoculación mixta, se realizaron ensayos de coexistencia entre las diferentes cepas. Posteriormente, en aquellos cultivos mixtos que presentaron coexistencia positiva se realizó extracción de ADN de los mismos para realizar PCR-*pqqE*. La amplificación del fragmento del gen *pqqE* se realizó utilizando cebadores diseñados en el laboratorio.

Fue posible observar que todas las combinaciones empleadas en los cultivos mixtos indicaron coexistencia positiva. Además, fue posible detectar el producto de amplificación esperado en todos los moldes de ADN provenientes de los cultivos mixtos. Es posible concluir que el fragmento correspondiente al gen *pqqE* es factible de ser detectado en cultivos en los cuales coexisten bacterias *pqqE*+ y *pqqE*-, por lo que el gen *pqqE* es un potencial marcador molecular de bacterias Gram negativas con fenotipo solubilizador de fosfato. Estos resultados alientan a indagar el potencial uso del gen *pqqE* para analizar BSP en muestras de suelo rizosférico.

## ANÁLISIS DE LA COLONIZACIÓN RIZOSFÉRICA Y ENDOFÍTICA EN EL MODELO *Medicago sativa-Pantoea sp.*

Sofía Erdozain Bagolín (1), Nicolás Emilio Zuber (1, 2), Mauricio Javier Lozano (1),  
José Luis López (1), Antonio Lagares (1)\*

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM-UNLP-CONICET), La Plata,  
Argentina. (2) Área de Microbiología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias (UNL),  
Esperanza, Santa Fe, Argentina.

\*lagares@biol.unlp.edu.ar

Las plantas se encuentran naturalmente colonizadas por una gran diversidad de microorganismos que conforman su microbioma. En conjunto, planta y microorganismos conforman el holobionte que evoluciona adaptándose a los cambios del ambiente. El hospedador provee al microbioma nichos exofíticos y endofíticos que los microorganismos ocupan aumentando la capacidad adaptativa (*fitness*) del holobionte como conjunto. Los microbiomas asociados a plantas son actualmente foco de numerosos estudios orientados a entender los mecanismos de colonización y heredabilidad de los mismos, con fines tanto básicos como prácticos. El proceso de colonización endofítica, en particular, es de especial interés ya que implica compatibilizar los sistemas de defensa de la planta con los microorganismos colonizantes.

En nuestro laboratorio hemos comenzado a estudiar la colonización rizosférica y endofítica de alfalfa empleando como modelo la cepa *Pantoea sp.* LPU 12 recuperada del interior de semillas de la misma planta. Empleando inóculos bajos del orden de  $10^5$  UFC de *Pantoea/ml* sobre plantas de 1 día post-germinación crecidas en vermiculita con medio mineral Fahræus, hemos observado que la colonización de la rizósfera crece durante las primeras 48 h alcanzando un *plateau* caracterizado por una población final de aprox.  $10^5$  UFC/planta. Ensayos similares para estudiar la colonización del rizoplaneo (bacterias adheridas) y edofítica realizados con inóculos altos, del orden de  $10^7$  UFC de *Pantoea/ml* (que no limitan la colonización rizosférica), mostraron que luego de 1 día post-inoculación el número de bacterias asociadas a la planta (resistentes a lavados enérgicos) alcanza valores que permanecen aproximadamente constantes en  $10^6$  UFC/g de planta. Finalmente, diseñamos un ensayo orientado a investigar si la población de *Pantoea* dentro de la planta refleja el crecimiento endofítico de unos pocos clones ingresantes o si, alternativamente, la población endofítica final guarda relación directa con la representación (numérica) de diferentes pantoeas presentes en el inóculo. Empleando dos pantoeas isogénicas marcadas diferencialmente con dos variantes de la proteína GFP (florencia verde y roja, respectivamente) observamos que existe una relación lineal ( $r^2 = 0,99$ ) entre la proporción de ambas pantoeas en el estado endofítico respecto de la relación de las mismas pantoeas en el inóculo. Tal relación lineal se verificó usando relaciones entre ambas cepas en rangos de inóculo entre 1:1 y 1:1: $10^4$  [pantoea verde:pantoea roja].

Los resultados que aquí reportamos muestran la dinámica y las características básicas de la colonización endofítica de alfalfa por *Pantoea* como sistema modelo, y sientan las bases para el inicio de estudios fenómicos de colonización—empleando mutantes por transposición y secuenciación de alta capacidad—como ya hemos realizado en nuestro laboratorio para caracterizar la genética del acceso de rizobios a la rizósfera de leguminosas.

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE CEPAS NATIVAS DE *Aspergillus flavus* AISLADAS DE ESPIGAS DE MAÍZ PROVENIENTES DE DIFERENTES AMBIENTES AGRÍCOLAS**

Karina Torrico (1)\*, Javier Barontini (1), Agustina Ruiz Posse (1), Diego Cordes (2), Mariana Ferrer (1), Marcelo Druetta (3), María de la Paz Giménez Pecci (1)

(1) Instituto de Patología Vegetal, Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola, Centro de Investigaciones Agropecuarias - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Córdoba, Argentina. (2) Agencia de Extensión Rural Jesus María - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Jesus María, Córdoba, Argentina.

(3) Estación Experimental Agropecuaria Quimilí -Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Quimilí, Santiago del Estero, Argentina.

\* torrico.karina@inta.gob.ar

El maíz se cultiva en una amplia superficie del territorio nacional, bajo diferentes condiciones agroecológicas. Regiones como el norte de Córdoba y Santiago del Estero presentan una alta variabilidad climática lo que expone al cultivo a estreses hídricos y térmicos que favorecen el desarrollo de determinados patógenos. Uno de ellos es el hongo *Aspergillus flavus*, responsable de la contaminación del maíz durante la etapa reproductiva del cultivo con un metabolito tóxico denominado aflatoxina. Una alternativa para reducir los niveles de contaminación con aflatoxinas es el control biológico con cepas de *A. flavus* nativas adaptadas al lugar donde se quiere aplicar, que no produzcan aflatoxinas, y que tengan la capacidad de excluir competitivamente a las cepas que la producen. Las cepas no productoras de aflatoxinas generalmente forman estructuras de resistencia denominadas esclerocios con morfotipo L, mayores a 400  $\mu\text{m}$ .

Debido a su comportamiento local se propuso aislar y caracterizar morfológica y molecularmente cepas de *A. flavus* de ambientes agrícolas de la provincia de Córdoba y Santiago del Estero. Se colectaron 10 espigas al azar de plantas en madurez fisiológica de lotes comerciales de 5 ambientes agrícolas: Otumpa (Noreste de Santiago del Estero) en la campaña 2018/19 y Obispo Trejo, Candelaria Sud, Las Arrias y Jesus María en 2019/20 (norte de la Provincia de Córdoba), se trillaron y se aisló microbiota mediante plaqueo directo con desinfección superficial de 100 granos maíz. Se sembraron en medio de cultivo DG18% y se incubaron durante 7 días a  $28^{\circ}\text{C}\pm 2$ . La identificación morfológica del patógeno se realizó mediante crecimiento diferencial en medio específico para *A. flavus/A. parasiticus*, bajo microscopio estereoscópico, óptico y con el uso de claves sistemáticas para su identificación a nivel de especie. Se obtuvieron cultivos monospóricos y se determinó la capacidad de producción de esclerocios en medio Czapeck Dox incubados 14 días a  $28^{\circ}\text{C}\pm 2$ . La identidad de *A. flavus* se corroboró mediante PCR con cebadores específicos de la región ITS.

Se obtuvieron 47 cepas nativas de *A. flavus*, 20 cepas provenientes de Otumpa, 19 de Obispo Trejo, 4 de Candelaria Sud, 2 de Las Arrias y 2 de Jesús María según características morfológicas y la amplificación de la banda esperada de 490 pb por PCR. De los 47 aislados obtenidos 79% (n= 37) produjeron esclerocios y de ellos 30% (n= 11) fueron morfotipo L y 70% (n= 26) fueron S. En todos los ambientes, excepto en Las Arrias, se aisló al menos 1 cepa con esclerocios L. Las 47 nuevas cepas se suman a las 191 de la misma especie mantenidas en la colección del IPAVE - CIAP - INTA obtenidas desde espigas de maíz.

## ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE AISLADOS DE *Aspergillus flavus* NO AFLATOXIGÉNICOS, POTENCIALES AGENTES DE BIOCONTROL EN MAÍZ, AISLADOS EN SANTIAGO DEL ESTERO Y REGIÓN COLINDANTE DE TUCUMÁN Y CÓRDOBA

Javier Barontini (1)\*, Verónica Trucco (1), Karina Torrico (1), Marcelo Druetta (2), Sofía Chulze (3),  
María de la Paz Giménez (1)

(1) Instituto de Patología Vegetal - Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola - Centro de Investigaciones Agropecuarias - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IPAVE - UFYMA - CIAP - INTA - CONICET), Córdoba, Córdoba, Argentina. (2) Estación Experimental Agropecuaria Quimilí - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA - INTA), Quimilí, Santiago del Estero, Argentina. (3) Instituto de Investigación en Micología y Micotoxicología, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad Nacional de Río Cuarto (IMICO - CONICET – UNRC), Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

\*barontini.javier@inta.gob.ar

*Aspergillus flavus* infecta la espiga de maíz causando pudrición y frente a condiciones climáticas estresantes, cepas aflatoxigénicas producen la toxina nociva para la salud humana y animal. El desarrollo de estrategias de biocontrol basadas en la exclusión de cepas aflatoxigénicas de un determinado nicho ecológico, requiere conocer caracteres de la población, como por ejemplo su diversidad genética. El análisis filogenético establece relaciones evolutivas entre y dentro de las especies, indica las que comparten ancestros comunes y las distancias evolutivas entre ellas. Para ello, el gen *CaM* es un carácter ampliamente utilizado debido a que la calmodulina es una proteína encargada de regular gran variedad de enzimas. El objetivo del trabajo fue establecer relaciones filogenéticas de secuencias de un segmento del gen *CaM*, de aislamientos de *A. flavus* no aflatoxigénicos, colectados en áreas cultivables de Santiago del Estero, Tucumán y Córdoba.

A partir de 30 aislados mantenidos en la colección del IPAVE - CIAP - INTA, se realizó una suspensión de esporas y se ajustó a  $1 \times 10^6$  conidios.mL<sup>-1</sup>. Posteriormente, se inocularon en medio lixiviado de papa y glucosa (LP) y se incubaron en agitación a 150 rpm y  $25 \pm 2$  °C. Se colectó el micelio, se pulverizó con N<sub>2</sub> y extrajo el ADN con CTAB. Se amplificó un segmento del gen *CaM* con los iniciadores CL1 y CL2A (O'Donnell *et al.*, 2000) y los fragmentos del tamaño esperado de 688 pb se purificaron utilizando columnas Wizard® SV Gel and PCR clean - Up system (Promega). Las secuencias obtenidas mediante el método Sanger (Macrogen, Corea del Sur) se alinearon con el programa Clustal X2. Se utilizó el programa MEGA 7 para la selección del mejor modelo de sustitución nucleotídica y para obtener los árboles filogenéticos empleando los métodos "Vecinos más cercanos" y "Máxima verosimilitud", con un bootstrap de 10.000 réplicas. Las secuencias se compararon con la de referencia NW\_002477238.1 y con *A. niger* MH645004.1 del GeneBank.

La totalidad de las secuencias pertenecieron al clado *A. flavus*. El polimorfismo entre los aislamientos de las diferentes localidades fue bajo, con un nivel de variabilidad genómica similar entre las secuencias e identidad nucleotídica entre 99,4% y 100%. La alta similitud entre los aislados para este carácter, mostró que la diversidad genética es casi nula, en esta región geográfica. El análisis de regiones genómicas menos conservadas, complementado con estudios de caracterización morfológica permitirá avanzar en la selección de aislados de *A. flavus* atoxigénicos, con potencialidad para su utilización como biocontroladores.

**EL CICLO DE CALVIN-BENSON-BASSHAM AFECTA EL CRECIMIENTO DE *Bradyrhizobium diazoefficiens* Y ES REQUERIDO EN LA COMPETITIVIDAD PARA NODULAR SOJA**

Rocío S. Balda (1), Carolina Cogo (2), María Julia Althabegoiti (1), Aníbal R. Lodeiro (1,3)\*  
(1) IBBM, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP y CCT-La Plata CONICET, La Plata, Argentina. (2) Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería, UNLP, La Plata, Argentina. (3) Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, La Plata, Argentina.  
\*lodeiro@biol.unlp.edu.ar

*Bradyrhizobium diazoefficiens* es una bacteria que vive libremente en el suelo, o simbióticamente dentro de nódulos de soja. En vida libre puede utilizar D-manitol (D-Mtl) o L-arabinosa (L-Ara), entre otras fuentes de C y energía. Cuando utiliza D-Mtl expresa las enzimas del ciclo de Calvin-Benson-Bassham (CBB), pero no cuando utiliza L-Ara. En este trabajo nos propusimos indagar en la regulación y los requerimientos del CBB, en particular, de la ribulosa-1,5-bisfosfato-carboxilasa-oxigenasa (RuBisCO). Las enzimas del CBB están codificadas en un operón que es precedido por el regulador *cbpR*. Hemos observado la presencia de CbpR en bacterias creciendo tanto en D-Mtl como en L-Ara, a diferencia de las otras proteínas del CBB. Hemos detectado varios motivos de unión de CbpR en la región promotora del operón *cbp*. Se ha propuesto que, en bacterias no fotosintéticas, el CBB podría cumplir un rol como sumidero del exceso de poder reductor más allá de la posible fijación de CO<sub>2</sub>. Ello estaría regulado por el sistema de dos componentes RegRS, y concordantemente, encontramos secuencias de unión de RegR en la zona 5' del operón *cbp* de *B. diazoefficiens*.

Estudiamos la filogenia de las subunidades de RuBisCO mediante el agrupamiento de las secuencias aminoácidas de CbpL (subunidad mayor) y CbpS (subunidad menor) con diversas ortólogas de las Rhizobiales, exceptuando Bradyrhizobiaceae. Hemos observado una mayor similitud con *Labrys okinawensis* y *L. sp. KNU-23* (familia Xanthobacteraceae) que con otros rizobios. Más aún, CbpL y CbpS de otras especies de rizobios aparecieron dispersas en el árbol filogenético. Para entender mejor el rol del CBB en *B. diazoefficiens* hemos construido una mutante deletional abarcando la región codificante de *cbpL* de USDA 110<sup>T</sup>, inactivando así su RuBisCO, enzima esencial del CBB. La mutante  $\otimes$ *cbpL* mostró un defecto en su crecimiento en medio mínimo con D-Mtl respecto de la cepa salvaje (manifestado como una reducción a la mitad de la DO en fase logarítmica), cosa que no ocurrió con L-Ara. Además, las células de  $\otimes$ *cbpL* fueron un 20% más chicas que las salvajes cuando crecieron en medio mínimo con D-Mtl, pero fueron de tamaño similar con L-Ara.

Esta mutación no provocó defectos en la nodulación de plantas de soja cultivadas en condiciones axénicas libres de N. Sin embargo, cuando las plantas de soja fueron coinoculadas con  $\otimes$ *cbpL* y LP 3004 (derivada de USDA 110 resistente a estreptomycin) en proporción 1:1, solo el 2,3% de los nódulos contuvieron únicamente  $\otimes$ *cbpL*. Por comparación, cuando las plantas se coinocularon con USDA 110 y LP 3004, el 22,4% de los nódulos contuvieron solamente USDA 110, siendo el resto nódulos ocupados por LP 3004 o por ambas cepas.

Nuestros resultados indican que, en *B. diazoefficiens*, el operón *cbp* podría ser corregulado por RegRS y CbpR activado, y los productos de este operón jugarían un papel en aliviar la sobrecarga de poder reductor, lo que sería necesario para la eficacia de la nodulación temprana de soja.

## EL MANEJO AGRÍCOLA ALTERA EL MICROBIOMA DEL SUELO CULTIVADO CON CAÑA DE AZÚCAR

Marcelo A. Soria (1,2), Marcela S. Montecchia (1,2), Olga S. Correa (1)\*

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Cátedra de Microbiología Agrícola. Av. San Martín 4453 (1417). C.A.B.A. Argentina. 2. Instituto de Biociencias Agrícolas y Ambientales. INBA (UBA-CONICET) Av. San Martín 4453 (1417). C.A.B.A. Argentina. correa@agro.uba.ar

El microbioma del suelo es un componente fundamental de la salud del suelo. El manejo convencional del cultivo de caña de azúcar afecta negativamente la salud del suelo y la sostenibilidad de la producción. La implementación de una tecnología de manejo conservacionista, que aumente la abundancia y diversidad del microbioma, podría ayudar a revertir esos efectos negativos y reducir el impacto ambiental. En este trabajo, usamos técnicas de secuenciación masiva para indagar cómo la diversidad del microbioma bacteriano de suelos cultivados con caña de azúcar responde a diferentes manejos.

En un ensayo de larga duración, iniciado en el año 2013 en la EEA INTA-Famailá (Tucumán), se tomaron muestras de suelo con dos tipos de labranza: convencional (LC) y en franjas (LF) y dos de cosecha mecánica: convencional (CC) y liviana (CL). En diciembre y marzo de 2017 se tomaron muestras de suelo a 0-15 cm de profundidad, se tamizaron por 2 mm y conservaron a -80°C hasta su procesamiento. Se extrajo ADN con un kit comercial y se amplificó parte de la secuencia del gen 16S rRNA. Mediante secuenciación de alto rendimiento se analizó la comunidad bacteriana y de filos de arqueas metanogénicas para las muestras de marzo, el momento de mayor abundancia. Los análisis metagenómicos se realizaron con Qiime2.

En las 12 muestras, que contaban entre 41073 y 58134 secuencias, se detectaron 12010 Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs). Para determinar diferencias a nivel de diversidad beta que estuvieran asociadas al manejo agronómico, se realizaron tests de Adonis sobre las matrices de distancia Unifrac y de Bray-Curtis. Para detectar la existencia de OTUs diferenciales se utilizaron tres métodos (limma-voom, DESeq2 y corncob).

A nivel taxonómico los filos más importantes fueron Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Verrucomicrobia. Las diferencias en diversidad beta para las distancias Bray-Curtis no fueron significativas, pero para las distancias Unifrac se detectó un efecto significativo de la labranza ( $P = 0,013$ ). El estudio de diversidad alfa indicó que en las muestras provenientes de LF la riqueza observada fue mayor ( $P=0,037$ ). Este podría ser uno de los factores que explican los cambios en diversidad beta. Se encontró una asociación significativa entre Firmicutes y la labranza ( $P = 0,008$ ). También se determinó que la abundancia de Verrucomicrobia fue menor en LC ( $P = 0,028$ ). Se encontraron nueve especies diferenciales, pero solo una de ellas, identificada como *Flavobacterium*, fue confirmada por más de un método.

En conclusión, la labranza conservacionista revertiría los efectos negativos del manejo convencional sobre la salud de los suelos cultivados con caña de azúcar, a través de un aumento en la diversidad y abundancia del microbioma bacteriano. Deben continuarse los estudios a fin de comprobar si los cambios observados se mantienen en el tiempo.

**DIVERSIDAD ENDOFÍTICA DE *Cedrela angustifolia* EN LAS YUNGAS JUJEÑAS**

Giulianotti, C.G. (1)\*, Bejarano, N.V. (1,2)\*, Cáceres, R.J. (1), Carrillo, L. (3)

(1) Centro de Investigación de Sanidad Forestal (CISFO). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy (FCA, UNJu), San Salvador de Jujuy, Argentina. (2) Fitopatología (FCA, UNJu). (3) Microbiología Agrícola (FCA, UNJu).

\*cgiulianotti@fca.unju.edu.ar

En las Yungas jujeñas, *Cedrela angustifolia* representa una de las especies forestales más apreciadas por su madera y regeneración natural. Los endofitos fúngicos son microorganismos que colonizan asintóticamente los tejidos vegetales. Son considerados fuentes potenciales de metabolitos secundarios, otorgándoles a sus hospedantes tolerancia al estrés biótico y abiótico, mejoras en su habilidad competitiva y su diversidad puede influir en la función de cada ecosistema.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar la composición del ensamble de las comunidades endofíticas facultativas en yemas apicales del tallo y hojas de *C. angustifolia* en diferentes ambientes. Se estudiaron 4 sitios de Jujuy: Serranías de Zapla, Ocloyas, Lapachal y Sauzalito. Para el aislamiento, se desinfectaron los tejidos meristemáticos y foliares, seguidos por la siembra en Agar papa glucosa e incubación a  $26^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$  por 7 días. La identificación de las especies desarrolladas se realizó a partir de sus características macro y microscópicas.

En el tejido meristemático apical del tallo se registraron 3 géneros: *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp., de los cuales el primero dominó los ensambles de todos los ambientes, salvo en Lapachal en donde fue co-dominante con *Cladosporium* sp. No se observaron diferencias significativas entre los índices de Shannon ( $H=1,58$   $p=0,6628$ ) y Simpson ( $H=4,81$   $p=0,1853$ ). La diversidad de endófitos en yemas fue baja y similar entre los ambientes. En el tejido foliar, *Alternaria* fue dominante o co-dominante. El ensamble de la comunidad fúngica endofítica de las Serranías de Zapla estuvo co-dominado por *Xylaria* sp., seguido por *Penicillium* sp. y *Colletotrichum* sp. En Ocloyas, *Xylaria* sp. se presentó como subdominante. En Sauzalito, *Cladosporium* sp. fue subdominante de este ensamble. En Lapachal, dominó *Xylaria* sp. y co-dominó *Alternaria* sp., seguido por *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. Los géneros *Cercospora* sp. y *Pleiochaeta* sólo se encontraron en Ocloyas, mientras que *Gnomonia* sp. y *Glomerella* sp. sólo se aislaron en Serranías de Zapla y el complejo *Diaporthe-Phomopsis* en Sauzalito. Hubo diferencias significativas entre los índices de diversidad del tejido foliar de todos los ambientes estudiados (Shannon y Simpson,  $H=14,12$   $p=0,0027$ ), siendo las Serranías de Zapla el ambiente más diverso, seguido por Ocloyas, Lapachal y Sauzalito.

A partir de este trabajo se amplía la distribución de los endofitos que colonizan a *C. angustifolia*. Se determinará en estudios posteriores, cómo influyen las variables ambientales en estos ensambles endofíticos de las Yungas jujeñas.

## EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL EFECTO DE DIFERENTES ESQUEMAS DE ROTACIONES DE CULTIVOS SOBRE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS EDÁFICAS

Luciana P. Di Salvo (1,2)\*, María Semmartin (3,2), Santiago L. Poggio (4,5)

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Biología Aplicada y Alimentos. Cátedra de Microbiología Agrícola. CABA, Argentina. (2) CONICET. Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Recursos Naturales y Ambiente. Cátedra de Ecología. CABA, Argentina. (4) CONICET – Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agricultura – CONICET IFEVA. CABA, Argentina. (5) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Producción Vegetal. Cátedra de Producción Vegetal. CABA, Argentina.

\*disalvol@agro.uba.ar

El estudio de la ecología microbiana constituye una herramienta fundamental para el monitoreo de la salud del suelo y la sustentabilidad de las prácticas agropecuarias. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de diferentes esquemas de rotación de cultivos sobre variables microbiológicas.

Para ello, se llevó a cabo un ensayo a largo plazo durante seis años consecutivos (2014 a 2020) en cuatro establecimientos diferentes de los grupos CREA Norte de Buenos Aires. Se evaluaron tres esquemas de rotaciones de cultivos: i) monocultivo de soja, ii) rotación de tercios (trigo/soja 2da-maíz-soja 1ra) y iii) rotación intensificada: trigo/soja 2da-arveja/maíz-soja 1ra. Las muestras de suelo fueron obtenidas antes de la siembra del último cultivo de soja del ensayo. A partir de estas muestras se evaluó la respiración potencial de las comunidades microbianas edáficas, se determinó el número de microorganismos celulolíticos por recuento en medio de cultivo específico. Finalmente, se evaluó la diversidad funcional potencial de las comunidades microbianas edáficas, mediante la metodología de CLPP.

Luego de incubar las muestras de suelo durante diez días sin agregado de sustratos, se observó que las comunidades microbianas presentes en los suelos bajo monocultivo de soja presentaron menor respiración potencial en comparación con las comunidades microbianas presentes en los suelos bajo rotación de tercios y rotación intensificada. Frente al agregado de sustratos potencialmente degradables a las muestras de suelo, las diferencias observadas entre esquemas de rotaciones desaparecieron, indicando que la actividad microbiana potencial es similar entre esquemas de rotaciones. Por otra parte, en esta oportunidad, luego del período en el que el mismo suelo se cultivó con tres secuencias de cultivos contrastantes, no se observaron diferencias en el número de microorganismos celulolíticos para los diferentes esquemas de rotaciones. Finalmente, los perfiles funcionales potenciales mostraron diferencias fisiológicas entre comunidades microbianas de los suelos de los diferentes establecimientos de mayor magnitud que las diferencias observadas entre los diferentes esquemas de rotaciones de cultivos. Estas diferencias entre comunidades microbianas de suelos de diferentes establecimientos no se observaron en los índices ecológicos evaluados.

Este trabajo muestra la utilidad del estudio de la ecología microbiana como indicador de la sustentabilidad de la rotación de cultivos, observándose diferencias en la tasa de respiración microbiana en los suelos con monocultivo de soja. Además, los perfiles funcionales potenciales mostraron diferencias entre los establecimientos evaluados. Nuevos estudios se realizarán en otro ensayo de rotaciones de larga duración, incorporando muestreos intermedios, para profundizar en el conocimiento del funcionamiento del ecosistema suelo en los distintos escenarios.

**DETERMINANTES MOLECULARES EN LA SIMBIOSIS FIJADORA DE NITRÓGENO:  
AVANCES EN EL ANÁLISIS PROTEÓMICO DUAL DE NÓDULOS DE *Medicago truncatula***

Abril Luchetti, Lucas G. Castellani, Julieta Pérez Giménez, Gonzalo Torres Tejerizo\*  
Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CONICET-UNLP, La Plata, Argentina  
gatt@biol.unlp.edu.ar

La simbiosis entre rizobios y plantas leguminosas es un proceso complejo, que se inicia con un intercambio de señales y finaliza con la formación del nódulo. Este órgano se desarrolla en las raíces de las plantas leguminosas ante la presencia de determinados microorganismos, y en él los rizobios se diferencian en bacteroides. El proceso de diferenciación en bacteroides es un proceso clave para la fijación biológica de nitrógeno eficiente. Han sido descritos numerosos genes de la planta involucrados en este proceso, como por ejemplo los que codifican péptidos ricos en cisteínas específicos de nódulos (*nodule-specific cysteine-rich peptides*, NCRs). Los NCRs son secretados por la planta, y detectados por las bacterias, donde desencadenan cambios en el fenotipo de las mismas. Si bien esta interacción es estudiada desde hace años, es escaso el conocimiento de otros determinantes cruciales involucrados en el proceso de diferenciación.

*Medicago truncatula* se encuentra estrechamente relacionada con *Medicago sativa* (alfalfa) y es utilizada como planta modelo en el estudio de la simbiosis rizobio-leguminosa. *Ensifer meliloti* establece una simbiosis altamente específica con *M. truncatula*, siendo el modelo de rizobio eficiente en la fijación biológica de nitrógeno al generar nódulos con bacteroides diferenciados. Otras bacterias como *Rhizobium favelukesii* son capaces de nodular *M. truncatula*. Sin embargo, los nódulos generados por esta bacteria son ineficientes en la fijación de nitrógeno. La comparación de los nódulos eficientes e ineficientes, generados por estas dos bacterias, podría ser clave para la búsqueda de genes involucrados en este proceso.

Previamente, hemos realizado ensayos transcriptómicos de nódulos de *M. truncatula* infectados tanto con *E. meliloti* (simbionte eficiente) como con *R. favelukesii* (simbionte ineficiente), donde observamos numerosos genes expresados diferencialmente. Por lo tanto, decidimos realizar ensayos proteómicos que nos ayudarán a comprender los procesos que ocurren dentro del nódulo. Estos ensayos permitirán evaluar qué proteínas están siendo expresadas, y que proteínas de la planta son dirigidas a las bacterias y bacteroides dentro de los nódulos. Para llevar a cabo este enfoque proteómico, realizamos ensayos de plantas de *M. truncatula* infectada con ambos rizobios. Luego de 10 y 31 días post-inoculación (dpi) recolectamos los nódulos y separamos los bacteroides del nódulo mediante gradientes de densidad para, posteriormente, extraer las proteínas de los mismos. El análisis de las muestras nos permitió identificar aproximadamente 1200 proteínas de cada bacteria, y alrededor de 800 de la planta. Al comparar el número de NCRs, vimos que hay un mayor número de éstos identificados en los nódulos de *E. meliloti* que en los de *R. favelukesii*. Esto sugiere que la producción de NCRs y, por ende, la correcta diferenciación, se ve afectada en función de la bacteria que realiza la infección.

## ESTADO ACTUAL DE LAS COLECCIONES DE MICROORGANISMOS RELACIONADAS A SANIDAD VEGETAL PRESENTES EN EL INTA

Miriam Asselborn, Pablo Cagliore, Pablo Campos, Denise Colombo, Ricardo Comerio, Cinthia Conforto, Juliana Iglesias, Florencia Lucca, María Virginia Pedraza, Jorge Valdez, Lucio Valetti,  
Alejandro Peticari\*

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina  
\*alepeticari@gmail.com

En la campaña 2019/2020 la superficie cultivada fue superior a los 40,1 millones de ha, siendo los principales cultivos soja, maíz, trigo, girasol, sorgo, cebada, avena y centeno. Se destacan por su importancia regional algodón, poroto, maní y arroz. (Informe de Coyuntura Agrícola, Junio 2020, MDPA). Los cultivos de forrajeras ocupan 8 millones de ha, siendo la alfalfa la principal especie cultivada. La fruticultura ocupa 1,4 millones de ha y los cultivos hortícolas ocupan cerca de 700 mil ha. En el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) se ha generado una Red de RRGG y dentro de esta, una destinada a los Recursos Microbianos con la finalidad de compatibilizar protocolos de preservación, documentación, intercambio y adecuación de permisos de acceso vinculados al Protocolo de Nagoya. El INTA cuenta con especialistas en fitopatología.

El presente relevamiento realizado dentro de la Red tiene como objetivo visualizar las especies microbianas colectadas y conservadas a lo largo del territorio argentino. Comprendiendo que en general estos hitos conservados son específicos para cada agroecosistema y como consecuencia de ello es alta la probabilidad de encontrar Recursos Genéticos Microbianos (RGM) de alto valor estratégico y de interés para el sector agropecuario. Integrando la Red se encuentran hasta el presente 7 colecciones en 7 experimentales INTA. Alrededor de 3000 entradas documentadas.

Se relevaron más de 30 de géneros de hongos patógenos. Las más frecuentes se corresponden con *Penicillium*, *Phytophthora*, *Puccinia*, *Pyricularia*, *Alternaria*, *Rhizoctonia*, *Exserhillum* y *Fusarium*. Se encuentran solo dos géneros de bacterias *Leifsonia* y *Xillela*. El 100% de las colecciones son generadas por el diagnóstico y trazabilidad de enfermedades de vegetales como ajo, arroz, olivo, maní, garbanzo, papa, cereales de invierno, girasol. En el caso particular de papa, además en colaboración con otros países. Un 70% de las colecciones son la base para estudios de resistencia y mejoramiento en cultivos de arroz, cereales de invierno, maíz y papa. Se observa la escasez de patógenos conservados de enfermedades de soja dada la importancia del cultivo a nivel nacional. Las formas de conservación son diversas donde predomina el cultivo en medios específicos, en papel de filtro, en tarjeta, un 30% utiliza para conservar nitrógeno líquido y un bajo porcentaje liofilización.

Se requiere adecuación de los protocolos de conservación como así también una adecuación a los permisos de acceso dentro de la normativa vigente en cada jurisdicción. Es de destacar que la colección presente en la EEA La Consulta está registrada en la Word Federation for Culture Collection bajo el número WDCM 904.

## AN INOCULANT BRADYRHIZOBIUM STRAIN WITH INCREASED MOTILITY IMPROVES YIELD OF SOYBEAN CROPS

Delfina Colla (1), Damián Brignoli (1), Esteban Tomás Iturralde (1), Julieta M. Covelli (2), María Julia Althabegoiti (1), Alejandro Peticari (3),

Aníbal Roberto Lodeiro (1, 4), Julieta Pérez Giménez (1) \*

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (CONICET-UNLP), La Plata, Argentina. (2) Laboratorio de Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas en el Suelo (Departamento de Ciencia y Tecnología, UNQ), Quilmes, Argentina. (3) IMyZA-INTA. Castelar, Argentina (dirección actual: EEA-INTA San Luis, Argentina). (4) Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. La Plata, Argentina  
\*jpg@biol.unlp.edu.ar

Soybean production is very important in Argentina, where more than 20 million hectares are sowed annually with this crop. Since soybean plants possess a very high N-demand, it is crucial that this agricultural activity is developed in a sustainable way because otherwise, this crop could deplete N-nutrition from the soils, leading to erosion, compaction, and flooding. Soybean roots are nodulated by *Bradyrhizobium* spp., which may fix atmospheric N<sub>2</sub> in symbiosis with the plant, thus contributing to keep the N-status of the soil. For this reason and due to their low cost, *Bradyrhizobium* spp. are widely used in inoculants for soybean crops. However, the efficiency of inoculants is low due to the competition exerted by bradyrhizobia resident in the soil. Among factors that affect the competition for nodulation is the self-propelled motility of the rhizobia.

Previously, we developed an artificial selection method to obtain bradyrhizobial strains with higher motility. *B. japonicum* E109 is the strain recommend by INTA for inoculants production. Therefore, we used E109 to increase its motility, and hereby we obtained the derived *B. japonicum* E109 m<sup>+</sup> strain. This strain possesses 50% more motility than its parental strain in semisolid agar medium, and has the same growth kinetics as the wild type, ruling out the possibility that the increased spreading of E109 m<sup>+</sup> in semisolid agar be due to faster growth.

*B. diazoefficiens* have two flagella systems, one subpolar and another lateral, characterized by flagellins of different molecular weights. The subpolar flagellum has constitutive expression and the lateral is inducible with L-arabinose as carbon source, but not with D-mannitol as carbon source. However, E109 m<sup>+</sup> expressed both flagella with D-mannitol, as observed with SDS-PAGE of purified flagellins, in agreement with previous results obtained with *B. diazoefficiens* USDA 110.

*B. japonicum* E109 m<sup>+</sup> nodulated soybean and after that, bacteria recovered from nodules maintained the higher motility phenotype. Field trials were performed to estimate yield when the soybean plots were inoculated with E109 m<sup>+</sup> or the E109 parental strain. Experiments were carried out in San Antonio de Areco, Province of Buenos Aires, in a soil with a competitive resident *Bradyrhizobium* spp. population, employing a randomized complete block design that included uninoculated controls. Grain yields were compared by ANOVA, which indicated that inoculation with E109 m<sup>+</sup> led to significantly higher yield than inoculation with E109 wild type.

Our results suggested that inoculation of soybean with improved motility strains could increase soybean yield by enhancing competition for nodulation in a sustainable way.

**PROTEOMIC STUDIES OF THE STRINGENT RESPONSE IN *Bradyrhizobium diazoefficiens* SHOW INDEPENDENCE BETWEEN THE LEVELS OF THE SECOND MESSENGER (p)ppGpp AND THE EXPRESSION OF MASTER REGULATOR CtrA**

Delfina Colla (1), Esteban Tomás Iturralde (1), Silvina Laura López García (1),  
Elías Javier Mongiardini (1), Julieta Pérez Giménez (1)\*  
(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (CONICET-UNLP), La Plata, Argentina.  
\*jpg@biol.unlp.edu.ar

Bacteria respond to sudden nutritional starvation through the stringent response (SR) producing the second messenger guanosine tetra/pentaphosphate ((p)ppGpp) that regulates bacterial metabolism with the purpose to survive in the new environment. Studies done with *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110 (soybean symbiont) showed that the bacteria were more infective and developed more nodules when they were cultivated with low N; under this condition the SR is triggered. Besides, bacteria cultivated in low N are more competitive to nodulate in comparison with those cultivated in N-sufficiency. This suggests that the improvements of the symbiotic parameters are due to the expression of different genes regulated by the amount of (p)ppGpp. This hypothesis is supported by the fact that *B. diazoefficiens* LP5065, a mutant in *rsh* gene whose product regulates the synthesis of (p)ppGpp, was less competitive to nodulate soybean and formed smaller nodules that were deficient in N<sub>2</sub> fixation.

In order to obtain a global overview of the SR in *B. diazoefficiens* a comparison proteomic experiment between the wild type (WT) and mutant (MUT) was done, through a nanoHPLC coupled to mass spectrometry (MS) with Orbitrap technology. For that purpose, we chose two conditions: Treated (T) with a free solution of C and N, where (p)ppGpp levels are increased in the wild type strain, and the Untreated condition (U).

On one hand, the stress effect was shown when we compared the WT T vs WT U. In the WT T condition we found different metabolic pathways down regulated such as the biosynthesis of amino acids and cofactors, carbon metabolism and the ABC transporters. In turn, were up regulated the biosynthesis of fatty acids and purine metabolism. On the other hand, the mutation effect has been exposed in the comparison of WT U vs MUT U, where in the WT second messenger levels are basal. In this comparison, we found up regulated the biosynthesis of amino acids, ABC transporters, carbon metabolism, glyoxylate cycle, purine metabolism among other pathways.

In *Caulobacter crescentus*, a direct relationship between (p)ppGpp levels and the cell cycle control regulator, CtrA, was found. Surprisingly, in the comparison of WT T vs U and WT U vs MUT U, we found that CtrA expression did not change. This regulator also acts as a master regulator in the control of subpolar flagellar system expression in *B. diazoefficiens*, the constitutively polar flagellum. Consistent with our finding, the swimming ability of both strains was not altered as well as the expression of the subpolar flagellum measured as a function of extracellular flagellin expression.

Due to that we could conclude that, in *B. diazoefficiens*, CtrA expression is independent of the (p)ppGpp levels. Even though, we need more evidence to understand the influence of the SR over the expression of CtrA and the regulation of subpolar flagellar system expression in *B. diazoefficiens*.

## EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DE USO AGRÍCOLA EN HUERTAS DE PRODUCTORES HORTÍCOLAS DEL CINTURÓN VERDE DE RESISTENCIA (CHACO)

Andrea A. Sirio (1)\*, Sebastián Blanco (1), Sebastián Carnicer (1), Germán L. Pérez (1)  
(1) Instituto Agrotécnico “Pedro M. Fuentes Godo” – Facultad de Ciencias Agrarias –  
Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Argentina.  
\*andreaasirio@gmail.com

El agua de riego es considerada como una fuente potencial de contaminación de vegetales en pre y postcosecha. Por ello, muchas organizaciones han recomendado estándares microbiológicos para el agua de riego de verduras de consumo fresco. En el año 2018, se incluyó a las Buenas Prácticas Agrícolas al Código Alimentario Argentino en el artículo 154 tris, siendo estas obligatorias en el sector hortícola desde enero de 2021. Uno de los requisitos mínimos respecto al agua de uso agrícola, es cumplir con las legislaciones provinciales en lo que respecta a su calidad.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad del agua de uso agrícola de los productores hortícolas del cinturón hortícola de Resistencia.

Se tomaron 15 muestras de agua de uso agrícola (riego y lavado de verduras). Se analizaron los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. A cada productor se le realizó una encuesta relacionada con los requisitos mínimos que se incluyen en las Buenas Prácticas Agrícolas. El agua utilizada provenía en un 73% de perforaciones (con profundidades de 10-18 m.), 20% de represas y el restante 7% de lagunas. El 66,67% de las muestras analizadas tenían una concentración igual o mayor a 3 NMP/100 mL de coliformes totales, mientras que el 33,33% tenían una concentración menor a 3 NMP/100 mL. Se encontró presencia de *Escherichia coli* en 2 muestras analizadas (pertenecientes a una perforación y a una represa).

La mayoría de las bacterias coliformes son parte del medio ambiente, no causando enfermedades pero indicando que puede estar contaminado el material por suelo o heces. El mejor indicador de contaminación fecal, es la presencia de *Escherichia coli*, además su presencia puede también estar asociada a la presencia de *Salmonella spp.* En las huertas visitadas, si bien los animales de granja se encontraban en sectores cercados, los animales domésticos podían circular libremente en el terreno. En todos los casos, la eliminación de excretas en las viviendas era mediante pozo ciego, cercanos a las perforaciones. La recolección municipal de residuos no llegaba a los terrenos visitados, por lo que la eliminación de residuos era a cielo abierto, quema o enterramiento. La forma de riego de los cultivos variaba según el tipo de cultivo y la disponibilidad de equipamiento del productor, muchas veces usando hasta 2 formas según la producción (aspersión, goteo e inundación). A pesar de que se sabe que la ocurrencia y concentración del patógeno juega un rol importante en determinar el riesgo final de exposición, hay pocos datos empíricos disponibles entre la contaminación microbiana del agua y vegetales junto con las diferentes condiciones de crecimiento y sistemas de riego. Los esfuerzos en la prevención deben continuar enfocados en las buenas prácticas agrícolas, mejora de la trazabilidad y buenas prácticas de manufactura.

**DIVERGENCIA DE LOS SISTEMAS DE DOS COMPONENTES Ntr EN *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110**

Valeria Hegel, Florencia Lamelza, María Florencia López,  
Delfina Colla y Silvina L. López García\*

(1) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM) - CONICET La Plata-Facultad de Ciencias. Exactas- UNLP, La Plata, Argentina.

\*pitylg@biol.unlp.edu.ar

*Bradyrhizobium diazoefficiens* es una bacteria del suelo que establece relaciones simbióticas con plantas de soja y fija N<sub>2</sub> atmosférico dentro de los nódulos formados en las raíces. Las condiciones ambientales del suelo y los cambios que ocurren en el entorno de la rizosfera son factores críticos que influyen en la persistencia y supervivencia de este microorganismo. El estrés ambiental impone una gran amenaza para la fijación simbiótica de N<sub>2</sub> que puede verse limitada por factores climáticos y del suelo tales como la salinidad, sequía, temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes, metales pesados, entre otros. La bacteria percibe y procesa estos estímulos a través de diversos circuitos moleculares que detectan y amplifican las señales, permitiendo la generación de respuestas específicas para sobrevivir en entornos fluctuantes. Los sistemas de dos componentes constituyen una de las vías específicas de transducción de señales para responder a tales estímulos. *B. diazoefficiens* expresa, entre otros sistemas de señalización, los sistemas de dos componentes NtrBC y NtrYX, que se encuentran contiguos en el genoma de esta bacteria. En nuestro laboratorio hemos observado que NtrBC es requerido para la asimilación de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> como fuente de N en vida libre; mientras que NtrYX participa en diversos procesos como la movilidad bacteriana, formación de biofilms, síntesis de exopolisacáridos y en la fijación de N<sub>2</sub>. Teniendo en cuenta la información reportada en otras bacterias, en este trabajo nos propusimos estudiar si existe una regulación cruzada (*cross talk*) entre ambos sistemas, y evaluar si la falta de un sistema puede ser complementada por el otro.

Para llevar a cabo nuestro objetivo, se construyeron mutantes dobles en las histidinas quinazas de ambos sistemas, NtrB y NtrY, denominado  $\Delta ntrBY$ , y un mutante en el regulador de respuesta de un sistema, NtrC, y en la quinasa del otro sistema, NtrY, denominado  $\Delta ntrCY$ . Luego evaluamos la asimilación en vida libre de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, la movilidad, la formación de biopelículas y la síntesis de EPS de los mutantes.

Observamos que los mutantes  $\Delta ntrBY$  y  $\Delta ntrCY$  poseen un déficit de crecimiento en nitrato al igual que los mutantes  $\Delta ntrB$  y  $\Delta ntrC$ , mientras que el mutante  $\Delta ntrY$  crece de modo similar a la cepa salvaje. De igual manera, estos mutantes dobles presentan un comportamiento análogo al mutante  $\Delta ntrY$  en la movilidad bacteriana, la formación de biopelículas y la síntesis de EPS, mientras que los mutantes  $\Delta ntrB$  y  $\Delta ntrC$  se comportan de manera similar a la cepa salvaje.

A partir de los resultados obtenidos podemos inferir que en *B. diazoefficiens* cada sistema desempeña un rol particular sin existir una regulación cruzada entre ellos, a diferencia de lo reportado para otras  $\alpha$ -proteobacterias. Probablemente los sistemas Ntr surgieron por duplicación y divergencia de genes, diferenciándose por mutaciones sucesivas lo que ha hecho que cada uno sea capaz de detectar una señal específica; aunque aún resta profundizar en esta hipótesis

**EVALUACIÓN DE LA SINERGIA EN EL CONTROL BIOLÓGICO Y LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE UN CONSORCIO DE *Trichoderma* spp. EN PLANTAS DE RÚCULA (*Eruca sativa*)**

Gabriel Buono (1), Antonella Santone (1), Javier Couretot (2), Sebastián Rius (1),  
Valeria A. Campos Bermudez (1)\*

(1) Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (CEFOBI-CONICET-UNR). Rosario, Argentina. (2) Centro Agroecológico Rosario (CAR) Programa de Agricultura Urbana - Rosario, Argentina

\*campos@cefobi-conicet.gov.ar

Una alternativa sustentable al uso de agroquímicos en los sistemas agrícolas es la utilización de diferentes especies de hongos del género *Trichoderma* spp. que actúan como promotores del crecimiento vegetal (PGPF) y biocontroladores. Respecto de su rol como PGPF, *Trichoderma* tiene la capacidad de convertir sustratos del suelo a formas disponibles para las plantas, como el fósforo, y de liberar al medio ciertas hormonas de crecimiento vegetal como el ácido indolacético. Además *Trichoderma* es capaz de inhibir el crecimiento de hongos patógenos debido a (1) competencia por nutrientes y espacio, (2) liberación de metabolitos secundarios (toxinas) o (3) micoparasitismo. El objetivo del presente proyecto es evaluar la capacidad sinérgica como PGPF y controlador biológico de 2 cepas autóctonas de *Trichoderma* (A y B) mediante técnicas *in vitro* y ensayos *in planta* en *Eruca sativa*.

Control Biológico. Por un lado se realizaron ensayos de antibiosis enfrentando las dos cepas autóctonas de *Trichoderma*, denominadas A y B contra diferentes patógenos modelo (*Macrophomina phaseolina*, *Diaporthe caulivora*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani*). En todos los casos, las diferentes cepas de *Trichoderma* produjeron una inhibición del crecimiento de los patógenos enfrentados. La cepa A provocó una mayor inhibición del crecimiento de todos los patógenos que la cepa B.

A partir de estos resultados, se puede concluir que, si bien las 2 cepas de *Trichoderma* mostraron diferente comportamiento frente a los diferentes patógenos estudiados, todas tuvieron la capacidad de disminuir el crecimiento de éstos. A su vez se evaluó la capacidad de generar consorcios mediante el crecimiento simultáneo de las dos cepas con capacidad biocontroladores y su efecto sobre *Rhizoctonia*.

PGPF. En primer lugar, analizamos el efecto de cada una de estas cepas de *Trichoderma* en la promoción del crecimiento vegetal de plantas de rúcula. Se evaluó el índice de germinación (IG), el crecimiento de raíces y desarrollo vegetal. La cepa A provocó mayores beneficios que la cepa B. Adicionalmente evaluamos el efecto de un consorcio conformado por estas dos cepas. Para ello se inocularon semillas con el consorcio de *Trichoderma* (cepa A+B). Como control se utilizaron las semillas sin inocular y se las compararon con aquellas tratadas con cada una de las cepas por separado. La combinación de estas cepas no genera cambios significativos en los parámetros de desarrollo vegetal.

Se puede concluir que tanto el consorcio de *Trichoderma* como las cepas por separado actúan como PGPF promoviendo la germinación de semillas, producción de biomasa y el desarrollo de raíces secundarias en rúcula. En base a los resultados *in vitro* contra patógenos ambas cepas A y B son buenas candidatas para su utilización como biocontroladores en cultivos de rúcula. Se evaluará su efecto *in vivo* mediante la infección con *Rhizoctonia* de plántulas de rúcula inoculadas con los biocontroladores.

## EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE EFLUENTE PORCINO Y FERTILIZACIÓN MINERAL SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA DEL SUELO Y RENDIMIENTO DE MAÍZ-SOJA

Dannae Serri (1,2)\*, Javier Campilongo (1,2), Nelson Bernardi Lima (1,2), Diego Mathier (1,3), Marcos Bragachini (1,3), Vanesa Pegoraro (1,4), Nicolás Sosa (1,3), Silvina Vargas Gil (1,2).

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. (2) Centro de Investigaciones Agropecuarias - Instituto de Patología Vegetal - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola, Córdoba, Argentina. (3) Estación Experimental Agropecuaria Manfredi, Córdoba, Argentina. (4) Estación Experimental Agropecuaria Marcos Juárez, Córdoba, Argentina.

\* serri.dannae@inta.gob.ar.

El efluente porcino es una fuente de nutrientes y materia orgánica para los cultivos agrícolas, su aplicación con fines agronómicos puede causar diferentes impactos en las propiedades del suelo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de efluente porcino estabilizado y su combinación con fertilizante mineral, sobre la influencia en las propiedades microbiológicas del suelo y el rendimiento de los cultivos.

El ensayo se realizó en un lote de producción de la Estancia La Constancia, localidad de Villa de María de Río Seco. Los tratamientos fueron dos dosis de efluente porcino, 150 y 300 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> (E150 y E300), su combinación con fertilización mineral nitrogenada (urea: U) a razón de 100 kg N ha<sup>-1</sup> (E150+U y E300+U), un control mineral (U: 100 kg N ha<sup>-1</sup>) y un control absoluto (C). Los respectivos tratamientos se aplicaron en presiembra del cultivo de maíz (campaña 2019/2020) y soja (campaña 2020/2021). Los muestreos de suelo se realizaron antes de la siembra y después de la cosecha de los cultivos. El efluente porcino presentó en promedio las siguientes características físico-químicas: pH 7,96, CE 16,66 dS m<sup>-1</sup>, sólidos totales 0,90 %, N 0,80 g l<sup>-1</sup>, fósforo 74,98 mg l<sup>-1</sup>, potasio 1,92 g l<sup>-1</sup>, sodio 0,08 g l<sup>-1</sup>, calcio 0,07 g l<sup>-1</sup> y magnesio 0,50 g l<sup>-1</sup>. Para E150 y E300 se aplicó el primer año 16,5 y 33 kg N ha<sup>-1</sup> y el segundo año 223,5 y 447 kg N ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Los parámetros evaluados fueron actividad enzimática global (FDA), respiración microbiana (RM), carbono de biomasa microbiana (CBM) y se calculó el coeficiente metabólico (qCO<sub>2</sub>) resultante del cociente entre RM y CBM. Los resultados se presentan como el promedio de todos los muestreos.

Se observó que, el uso de efluente porcino sólo o combinado con U, registró incrementos de la actividad microbiana edáfica medida por FDA, siendo la diferencia para E150 estadísticamente significativa y superior al resto de los tratamientos, mientras que, C y U registraron la menor actividad. Por ejemplo, en E150 la actividad FDA fue 28% superior respecto de C. En cuanto a RM y qCO<sub>2</sub>, los valores más altos se observaron en E150, sin embargo, no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos. El mayor contenido de CBM se registró en E300+U seguido de E300, aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. En cuanto al rendimiento de los cultivos sólo se obtuvieron diferencias significativas en maíz; dónde la dosis de E150 registró un incremento del 11,5% respecto a E300 el tratamiento que le precede y, 31% respecto de C, el tratamiento de menor rendimiento.

En este trabajo se observó que el uso agronómico de efluente porcino, principalmente sólo, y luego combinado con fertilizantes minerales, logró un incremento de la actividad microbiana del suelo y de los rendimientos del cultivo de maíz.

## EFFECTO DE DISTINTAS INTENSIDADES DE FUEGO SOBRE EL DESARROLLO TEMPRANO Y MICORRIZACIÓN DE PLÁNTULAS DE *Nothofagus antarctica* y *Pinus contorta*

Matias Soto Mancilla (1)\*, Natalia V. Fernández (2,4), Jorgelina Franzese (3,4)

(1) Universidad Nacional del Comahue, Centro Regional Universitario Bariloche, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. (2) Laboratorio de Microbiología Aplicada, Biotecnología y Bioinformática, IPATEC (UNComahue – CONICET), San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. (3) Laboratorio Ecotono, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente, UNComahue – CONICET, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. (4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

matyas.soto.33@gmail.com

En la Patagonia Argentina, *Pinus contorta* es una de las principales especies utilizadas para fines productivos. En los ambientes ecotonales de la región, donde *Nothofagus antarctica* predomina como especie forestal nativa, se han establecido plantaciones de *P. contorta* que han invadido los ambientes aledaños. El fuego es un disturbio recurrente en Patagonia, y en áreas invadidas por pinos su intensidad puede aumentar hasta un 30% y favorecer su establecimiento post-fuego. El suelo es otro factor crucial en los procesos de invasión de pináceas, ya que posee microorganismos capaces de facilitar su establecimiento y crecimiento. Entre ellos se encuentran los hongos ectomicorrícicos (HEcM). El objetivo de este trabajo fue evaluar cómo la intensidad del fuego y la procedencia del suelo afectan el desarrollo temprano y la micorrización por HEcM de plántulas de *N. antarctica* y *P. contorta*.

Se realizó un ensayo de vivero en el que se cultivaron plántulas de ambas especies forestales en suelo de dos tipos (Matorral nativo/Plantación de pino) sujetos a quemas experimentales de diferente intensidad (Alta=900°C/Baja=500°C/Control=sin quema). Finalizado el ensayo, se evaluó el efecto de ambos factores sobre el porcentaje de micorrización y la biomasa aérea y radical de las plántulas.

En ambas especies la micorrización fue superior al 70%, pero *P. contorta* presentó mayor micorrización que *N. antarctica* para los tratamientos Control e Intensidad baja en ambos tipos de suelo, siendo los valores similares en la quema de Intensidad alta. Mientras que en *N. antarctica* la micorrización tendió a incrementarse a medida que la intensidad del fuego aumentó, en *P. contorta* se observó la tendencia opuesta. La biomasa aérea de *P. contorta* fue casi el doble en suelo de plantación y no se observaron diferencias según la intensidad del fuego. Por el contrario, la biomasa aérea de *N. antarctica* no mostró diferencias según el tipo de suelo, pero en suelo de matorral fue mayor en los tratamientos con quema. En cuanto a la biomasa radical, en suelo de matorral no hubo diferencias entre especies, pero en ambas aumentó en los tratamientos con quema. En suelo de plantación, *P. contorta* presentó generalmente mayor biomasa radical que *N. antarctica*, pero los valores fueron menores en los tratamientos con quema. Se observó una correlación positiva entre la micorrización y la biomasa aérea de *N. antarctica*, siendo ésta negativa en *P. contorta*.

Concluyendo, tanto el crecimiento aéreo y radical de *N. antarctica* en suelo de matorral como su micorrización en ambos tipos de suelo se incrementaron en los tratamientos sujetos a quema, destacando su capacidad de recuperación frente a este disturbio. El crecimiento general de *P. contorta* fue mayor en suelos de plantación, pero no se observó relación directa con la intensidad del fuego. Por lo tanto, no se encontró evidencia de que el fuego favorezca la invasión de *P. contorta* a través de mejorar su crecimiento en etapas tempranas de desarrollo.

## ANÁLISIS DEL PERFIL DE LOCALIZACIÓN DIFERENCIAL DE SECUENCIAS DE INSERCIÓN EN RIZOBIOS

Ezequiel G. Mogro, Mauricio J. Lozano\*.

Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CONICET-CCT La Plata, UNLP, La Plata, Argentina.

\*mjlozano@biol.unlp.edu.ar / maurijlozano@gmail.com

En agricultura es común el uso de biofertilizantes como alternativa a la fertilización química, dado al impacto ambiental que genera esta última. Los rizobios son  $\alpha$ - y  $\beta$ - Proteobacterias con la capacidad de fijar  $N_2$  como amonio cuando están asociados simbióticamente con raíces de plantas leguminosas. Si bien la fijación de nitrógeno se produce en estructuras radiculares especializadas (nódulos fijadores de nitrógeno), estas bacterias también tienen una etapa de vida libre en la que se hallan en mayor concentración en la rizósfera, donde debido a la presencia de distintas cepas se produce una competencia por la colonización de la misma, la cual finalmente se ve reflejada en la ocupación de los nódulos.

El estudio de las diferencias genéticas entre las distintas cepas podría devenir en una mayor comprensión de los factores más influyentes que favorezcan el establecimiento de la simbiosis planta-rizobio. Una clase de modificación genética que podría generar cambios fenotípicos entre estas cepas es la producida por los elementos genéticos móviles, por lo que nos propusimos analizar las localizaciones diferenciales de secuencias de inserción (ISs) entre cepas de rizobios. Para ello utilizamos ISCompare, un *software* desarrollado por nuestro grupo de trabajo, que permite detectar eventos de movilización de ISs entre cepas cercanas. Se analizó de esta forma la distribución de estas nuevas ISs en regiones intergénicas, promotores, o regiones codificantes, y en este último caso las posibles funciones afectadas. Se destacaron por su mayor frecuencia inserciones en genes relacionados a transporte de iones inorgánicos en *Bradyrhizobium diazoefficiens*, transcripción en *Rhizobium etli*, traducción en *Rhizobium leguminosarum*, tráfico intracelular en *Sinorhizobium fredii* y funciones diversas en la transcripción, replicación, recombinación y reparación del genoma en *Sinorhizobium meliloti*. Adicionalmente, en el caso de *S. meliloti* varios de los genes afectados por la inserción de ISs mostraron un fenotipo afectado en ensayos STM (*signature tagged mutagenesis*) realizados en *S. meliloti* 2011 en los que se evaluó la sobrevivencia en formulaciones de inoculante líquido, turba y la competencia por la colonización de la rizosfera de alfalfa. Estos genes presentan funciones relacionadas a la transcripción, y transporte intracelular de coenzimas y iones inorgánicos.

En resumen, nuestros resultados sugieren que en rizobios las ISs se movilizan, siendo seleccionadas principalmente las inserciones en regiones potencialmente neutras, en su mayoría intergénicas, aunque en algunos casos podrían generar una ventaja adaptativa.

**CALIDAD MICOTOXICOLÓGICA DE GRANOS DE SORGO COSECHADOS EN ARGENTINA**

Lucia Clausi (1), Carina Pereyra (2), Soraya Bellini (3),  
Juan Martin Oteiza (3), Cecilia Gortar (1), Andrea Astoreca (1)\*

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP-CONICET, La Plata, Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad Nacional de Río Cuarto. Instituto para el Desarrollo Agroindustrial y de la Salud (IDAS), UNRC-CONICET, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (3) Centro de Investigación y Asistencia a la Industria (CIATI), Villa Regina, Neuquén, Argentina.

\*astoreca@biotec.quimica.unlp.edu.ar

El sorgo en la actualidad es el quinto cereal en importancia a nivel mundial, después del maíz, el trigo, el arroz y la cebada, ocupando un rol fundamental en la nueva cadena agroindustrial argentina y cobrando, además, cada vez mayor relevancia mundial. Este cultivo, como otros cereales, es susceptible a la contaminación fúngica y a su consecuente contaminación con micotoxinas. De acuerdo a una revisión publicada recientemente por Astoreca et al. (2019), las micotoxinas más relevantes asociadas a este cultivo en todo el mundo son las aflatoxinas, las fumonisinas, la zearalenona y el deoxinivalenol. Sin embargo, no existen reportes acerca de la incidencia de micotoxinas en granos de sorgo cosechados en nuestro país.

En vista del alto porcentaje de especies fúngicas potencialmente toxicogénicas obtenidas de granos de sorgo analizados en nuestro laboratorio y considerando, además, la escasa información actual sobre la incidencia de micotoxinas en este cultivo en nuestro país, el objetivo de este trabajo fue realizar un relevamiento de los principales metabolitos fúngicos que amenazan la inocuidad de este cultivo.

Se analizaron 19 muestras de sorgo (híbridos experimentales) provenientes de la estación experimental del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Manfredi, Córdoba. La extracción de los metabolitos se realizó siguiendo la metodología descrita por Varga et al., 2012 con algunas modificaciones y la detección y cuantificación de los mismos se llevó a cabo por cromatografía líquida acoplado a un espectrómetro de masa MSMS.

Se obtuvieron límites de cuantificación adecuadamente bajos para las diferentes toxinas analizadas: 1 µg/Kg para aflatoxina (AF), 2 µg/Kg para ocratoxina A (OTA), 10 µg/Kg para zearalenona (ZEA), 50 µg/Kg para fumonisina B<sub>3</sub> (FB<sub>3</sub>) y 100 µg/Kg para deoxinivalenol (DON), T<sub>2</sub>, HT<sub>2</sub>, fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) y fumonisina B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>). Fumonisinas (FUM), ZEA y DON fueron detectadas en el 100% de las muestras, sin embargo ninguna de las muestras analizadas resultó contaminada con AFs, OTA, T<sub>2</sub> y HT-2. Los niveles promedios encontrados fueron de 1423 y 468 µg/Kg para ZEA y DON, respectivamente. FUM fueron detectadas en niveles menores. Estos resultados coinciden con lo reportado hasta el momento en bibliografía. La co-incidencia de ZEA con FUM podría indicar la colonización con diferentes especies pertenecientes al género *Fusarium*.

En conclusión, los resultados de este estudio revelan que el consumo de estos granos representaría un riesgo de exposición a las mencionadas micotoxinas y confirmarían la necesidad de realizar monitoreos continuos a fin de garantizar la seguridad alimentaria de animales y humanos.

**DETECCIÓN MOLECULAR PARA ESTUDIOS DE TRAZABILIDAD DE *Bacillus altitudinis* UTILIZADOS COMO BIOFERTILIZANTES EN RAÍCES DE *Ilex paraguariensis* (YERBA MATE) Y SUELOS INOCULADOS**

Iliana Julieta Cortese (1,2)\*, Marisa Esther Boycho (1), Andrea Liliana Onetto (1,2), Gustavo Ángel Bich (1,2), Pedro Darío Zapata (1,2), María Lorena Castrillo (1,2), Margarita Ester Laczeski (1,2,3)

(1) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.

Instituto de Biotecnología Misiones “Dra. María Ebe Reca” (InBioMis). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Posadas, Misiones, Argentina. (2) CONICET. Posadas, Misiones, Argentina. (3) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Cátedra de Bacteriología. Posadas, Misiones, Argentina.

\*cortesejulieta@gmail.com

El cultivo de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) es un importante agronegocio en Argentina, cuya producción se desarrolla en las provincias de Misiones y Corrientes. Actualmente, existen plantaciones con buen desempeño en la región, sin embargo, se ha observado un aumento de cultivos de yerba mate degradados. En este sentido, la aplicación de microorganismos con propiedades que promueven el crecimiento vegetal (PGP) es una alternativa prometedora para la producción sustentable de cultivos y la regeneración de los suelos. El grupo de trabajo aisló dos cepas identificadas como *Bacillus altitudinis* T5S-T4 y 19RS3 a partir de plántulas de *I. paraguariensis* y las seleccionó por su capacidad PGP demostrada *in vitro* y en vivero. Con el fin de monitorear su colonización y persistencia en el tiempo, se diseñaron marcadores moleculares específicos para cada cepa. El objetivo del presente trabajo fue optimizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección molecular de las cepas de *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3 en raíces de plántulas de *I. paraguariensis* y suelo inoculados.

Se preparó un inóculo primario de cada cepa en caldo nutritivo y se incubó a 28 °C por 24 h, se realizó una suspensión bacteriana con una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/ml, luego se inocularon plántulas orgánicas de yerba mate donadas por la Fundación Alberto Roth (Santo Pipó-Misiones). Transcurridos 7 y 14 días, se realizó la extracción de ADN de raíces y suelo utilizando el kit comercial *EasyPure Plant Genomic DNA Kit* (TransGen Biotech, China) y *DNeasy PowerSoil Kit*, (Qiagen, USA), respectivamente. Para la PCR se utilizaron los cebadores cepa específicos diseñados previamente. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 20 µl, conteniendo agua libre de nucleasas, *buffer* 1X [10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl], 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de desoxinucleósidos trifosfato (Inbio Highway, Argentina), 10 pmol de cada uno los cebadores y 0,5 U de Taq ADN polimerasa (Inbio Highway, Argentina). Se agregaron 5-20 ng del ADN genómico extraído. Se utilizó un ciclado compuesto por una desnaturalización inicial durante 5 min a 94°C, seguida de 30 ciclos de 40 s a 94°C, 70 s a 56°C, 65 s a 72°C, y una elongación final durante 10 min a 72°C. Los productos de PCR se visualizaron a partir de una corrida electroforética en gel de agarosa al 2% (p/v) teñido con GelRed® (Sigma-Aldrich, Alemania).

Se observaron amplicones de aproximadamente 300 y 500 pb para *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3, respectivamente, utilizando 1 µl de ADN extraído de suelo tanto a los 7 y 14 días. Sin embargo, solo se observaron productos de amplificación a partir del ADN extraído de raíces a los 14 días.

Estos resultados sugieren que los cebadores diseñados junto con las condiciones de amplificación optimizadas permiten la detección de las cepas de *B. altitudinis* T5S-T4 y 19RS3 en raíces y suelo inoculados, por lo que serán aplicados en futuros ensayos de trazabilidad de los bioinoculantes en condiciones de campo.

## ANÁLISIS DE LA EXUDACIÓN RADICAL DE *Avena sativa* L. EN RELACIÓN CON LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y LOS MÉTODOS DE FINALIZACIÓN DEL CULTIVO

Marianela E. Morales (1)\*, Gastón Andrés Iocoli (1,3),  
María Bonita Villamil (4), María Celina Zabaloy (1,3)

(1) CERZOS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (2) IICAR-CONICET, Zavalla, Argentina. (3) Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. (4) Crop Sciences Department, University of Illinois at Urbana-Champaign, Estados Unidos.

\*marianelamorales28@hotmail.com

Las prácticas de manejo de los cultivos de cobertura invernales (CCI) podrían incidir sobre el microbioma del suelo y rizosfera, por inducción de cambios en los perfiles de exudación de las plantas. A su vez, los microorganismos que se vean favorecidos por los cambios en los exudados, podrían afectar a la planta, por ejemplo, mediante la movilización de nutrientes esenciales. Nuestro objetivo fue analizar el impacto de la fertilización (F) y el método de finalización (MF) de avena (*Avena sativa* L.) como CCI, sobre la composición de los exudados radicales y en el potencial génico para la degradación de glifosato y otros fosfonatos en bacterias rizosféricas.

Se realizó un ensayo con plantas de avena en invernáculo con dos factores de estudio: F con dos niveles: con y sin N ( $100 \text{ kg N ha}^{-1}$ ) y MF (aplicado en estadio Z3.1) con tres niveles: sin supresión (SS), corte mecánico (CM) y desecación química (DQ, glifosato,  $3 \text{ l ha}^{-1}$ ). Se muestrearon raíces y suelo rizosférico antes de la fecha de aplicación de los MF (SS) y 12 d postsupresión (CM y DQ). Se cuantificó el gen *phnJ*, que codifica para C-P liasas de la vía de degradación de fosfonatos en bacterias, el contenido total de fósforo (PT) en solución acuosa de exudados radicales y se caracterizaron los exudados radicales mediante la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier. Los datos fueron analizados con modelos lineales mixtos (SAS).

La abundancia del gen *phnJ* fue similar entre plantas con y sin N o entre MF. El análisis del contenido de PT mostró que los tres MF se diferenciaron entre sí en el orden de  $\text{CM} > \text{DQ} > \text{SS}$ . Se encontró una correlación positiva entre PT y la abundancia del gen *phnJ* ( $r=0,55$ ,  $P=0,017$ ), lo que sugiere que las bacterias que degradan fosfonatos juegan un rol importante en el ciclo global de P en la rizosfera de avena. Al analizar los espectros, se observó un incremento en la banda  $2850 \text{ cm}^{-1}$  para CM lo que indica mayor contenido de grupos  $\text{CH}_2$ . En la región  $1500\text{-}1300 \text{ cm}^{-1}$  los espectros de DQ y SS fueron muy similares mientras que CM presentó una menor intensidad y un ensanchamiento de la banda centrada en  $1421 \text{ cm}^{-1}$  y una mayor intensidad y definición de la banda centrada en  $1380 \text{ cm}^{-1}$ . Esta banda podría atribuirse a grupos metilo indicando un incremento en compuestos del tipo polisacáridos y a la deformación del enlace O-H en fenoles. Los espectros de CM presentaron mayores valores de absorbancia, mayor definición y diferenciación de las bandas en la región  $1200\text{-}950 \text{ cm}^{-1}$  respecto de DQ y SS, debido a un incremento en la exudación de polisacáridos, compuestos oxigenados y fosforados del tipo fosfodiésteres.

En conclusión, los MF tuvieron un efecto diferencial sobre el patrón de exudación de avena, no así la fertilización nitrogenada. Si bien la exudación fue distinta en plantas finalizadas por CM respecto a SS y DQ, no se produjeron cambios en la abundancia del gen *phnJ* en la rizosfera de las plantas independientemente de los MF.

## LOS MÉTODOS DE FINALIZACIÓN DE *Avena sativa* L. AFECTAN LA COMPOSICIÓN DE LA COMUNIDAD MICROBIANA DEL SUELO RIZOSFÉRICO

Marianela E. Morales (1)\*, Marco Allegrini (2), Gastón Andrés Iocoli (1,3), María Bonita Villamil (4),  
María Celina Zabaloy (1,3).

(1) CERZOS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (2) IICAR-CONICET, Zavalla, Argentina. (3) Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. (4) Crop Sciences Department, University of Illinois at Urbana-Champaign, Estados Unidos.

\*marianelamorales28@hotmail.com

Los cultivos de cobertura invernales (CCI) proveen numerosos beneficios sobre las propiedades fisicoquímicas del suelo, pero es escasa la información del efecto de esta práctica sobre la diversidad microbiana del suelo. La respuesta de la comunidad bacteriana de la rizosfera de CCI finalizados por métodos químicos o mecánicos merece mayor investigación. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar el impacto de la fertilización y el método de finalización de avena (*Avena sativa* L.) como CCI, sobre la composición de la comunidad bacteriana rizosférica.

Se realizó un ensayo con plantas de avena en invernáculo con dos factores de estudio: fertilización con dos niveles: con y sin nitrógeno (urea 46%N, 100 kg N ha<sup>-1</sup>) y método de finalización (MF, aplicado en estadio Z3.1) con tres niveles: sin supresión (SS), corte mecánico (CM) y desecación química (DQ, glifosato, 3 l ha<sup>-1</sup>). Se tomaron muestras de suelo rizosférico antes de la fecha de aplicación de los MF (SS) y a los 12 días postsupresión (CM y DQ), y se extrajo el ADN con un kit comercial. La secuenciación de la región V4 del ARNr 16S (cebadores 515F/806R) para bacterias se generó mediante la tecnología Illumina MiSeq. El procesamiento de datos y análisis bioinformático se llevó a cabo mediante QIIME2. Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con los datos de la tabla de los *reads* de las variantes de secuencia de amplicones transformados a *centered log-ratio* y clasificada a nivel de género. Los modelos lineales se ajustaron a cada CP utilizando el procedimiento GLIMMIX (SAS).

Los resultados del ACP mostraron que las comunidades bacterianas de la rizosfera de avena difirieron significativamente entre DQ y CM, a lo largo de la CP2 ( $P < 0,05$ ). El análisis estadístico de la CP3 indicó un efecto principal significativo del MF, el *score* medio fue mayor en SS respecto a DQ y CM ( $P < 0,05$ ). Los resultados mostraron un efecto estadísticamente significativo de la interacción para la CP6 ( $P < 0,05$ ). El *score* medio fue mayor en CM respecto a DQ y SS, sólo en la condición sin fertilizar.

La DQ favoreció a algunos géneros de la familia *Chitinophagaceae* (*Lacibacter* y *Asinibacterium*) asociada con la degradación de compuestos orgánicos complejos en la rizosfera de avena, a patógenos de planta (*Luteimonas*), géneros relacionados con la degradación de residuos derivados del petróleo (*Lysinimonas*), mientras que se vieron desfavorecidos géneros nitrificantes (*Nitrolancea*), promotores del crecimiento vegetal (*Lysinibacillus*) y otros géneros benéficos para la planta (*Curvibacter* y *Blastococcus*), en relación con CM. Asimismo, tanto CM y DQ favorecieron a géneros degradadores de quitinas y celulosa (*Chitinophaga* y *Cellvibrio*) y desnitrificantes (*Bradyrhizobium*) respecto de SS. Estos resultados indican que los métodos de finalización del CCI afectan la composición de la comunidad bacteriana rizosférica por modificación en los rizodepósitos al producirse el decaimiento del tejido radicular.

## EVALUACIÓN DE LEVADURAS ENDÓFITAS COMO AGENTES DE BIOCONTROL DE ALTERNARIOSIS DURANTE EL ALMACENAMIENTO POSCOSECHA DE UVA DE MESA

Torres-Palazzolo C. (1,2,3), Rojo C. (1,2), Lerena M.C. (1,2), Chimeno S.V. (2),  
Mercado L. (2,3), Combina M. (1,2), Ponsone, L. (1,2,4)\*

(1) CONICET CCT-Mendoza, Mendoza, Argentina. (2) INTA EEA-Mendoza, Mendoza, Argentina.  
(3) Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo, Mendoza, Argentina. (4) Facultad de Ciencias Exactas  
y Naturales UNCuyo, Mendoza, Argentina.  
\*ponsone.lorena@inta.gob.ar

La uva de mesa es una fruta altamente perecedera ya que la descomposición fúngica de los racimos causa grandes pérdidas durante el transporte y almacenamiento. Para disminuir estas pérdidas se utiliza dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>). Sin embargo, hay un interés creciente de los consumidores por reemplazar estos fungicidas por productos más naturales y ecológicos. En este marco, se propone el uso de agentes de control biológico para el manejo integrado de enfermedades poscosecha. La alternariosis es una enfermedad causada por *Alternaria alternata*, un hongo que puede crecer a bajas temperaturas y que puede afectar a los racimos durante su almacenamiento. El presente trabajo pretende evaluar la capacidad de levaduras epifitas para inhibir el crecimiento de *A. alternata* en bayas de uva de mesa durante la etapa de conservación.

Las levaduras utilizadas fueron aisladas de racimos cosechados en Mendoza durante la vendimia 2019-2020. Para el ensayo se seleccionaron 20 levaduras epifitas capaces de crecer a 0-1 °C. Por cada levadura se asperjaron 9 bayas con una suspensión de 10<sup>6</sup> cel/mL. Las uvas asperjadas se dejaron secar por 24 horas, luego se realizó una herida de 2 mm de diámetro en la zona ecuatorial de la baya. Por último, se inocularon en la herida 10 µL de una suspensión de 10<sup>4</sup> conidios/mL de *A. alternata*. El ensayo incluyó dos controles independientes. Las bayas fueron mantenidas a 0-1 °C y 90% HR durante un mes. La medición del diámetro de la herida se realizó a los 20 y 30 días. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante prueba de T para muestras independientes ( $p= 0,05$ ).

Los resultados a los 20 días mostraron que 8 aislados controlaban significativamente el avance de la enfermedad, reduciéndola un 32 a 53% respectivamente. Los aislados RCM2, FUL21 y ULA146 presentaron los mejores efectos. Mientras que, a los 30 días, 13 cepas lograron disminuir la severidad de la infección respecto al control, siendo esta 29 a 57% menos severa. En esta instancia, los aislados ULA140, ULA146 y FUL14 presentaron los mejores resultados. De aquí podemos concluir que las levaduras aisladas presentan un gran potencial como agentes de control biológico durante la conservación de uva de mesa en cámara frigorífica. No obstante, resta identificar molecularmente los aislados y realizar nuevos estudios a mayor escala con los aislados más prometedores para evaluar su efecto sobre la incidencia de la alternariosis en bayas sanas.

## EXTRACTOS PROVENIENTES DE DESECHOS VITIVINÍCOLAS Y SU POTENCIAL USO COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Alternaria alternata*

Torres-Palazzolo C. (1,2,3), Ferreyra S. (1,3), Iribas F. (4), Mercado L. (2,3), Combina M. (1,2),  
Fontana A. (1,3), Ponsone L. (1,2,4)\*

(1) CONICET CCT-Mendoza, Mendoza, Argentina. (2) INTA EEA-Mendoza, Mendoza, Argentina.  
(3) Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo, Mendoza, Argentina. (4) Facultad de Ciencias Exactas  
y Naturales UNCuyo, Mendoza, Argentina.  
\*ponsone.lorena@inta.gob.ar

Cada año la vitivinicultura produce un volumen significativo de derivados leñosos, como los residuos de poda (tallos) y el escobajo (raquis de los racimos). Estos desechos vitivinícolas son una fuente de compuestos fenólicos y sus extractos ya han exhibido numerosas propiedades bioactivas. Por otro lado, *Alternaria alternata* es un hongo fitopatógeno que afecta a la uva de mesa durante la etapa de poscosecha, causando grandes pérdidas. Por esto su control resulta de vital importancia. Los extractos de tallos (ET) y escobajo (EE) de vid podrían constituir una alternativa sustentable para el manejo de la alternariosis en poscosecha. Asimismo, la combinación de extractos naturales con otras estrategias podría aumentar su efectividad para el manejo integrado de las enfermedades fúngicas. Es por esto que el presente trabajo busca conocer el efecto de los extractos sobre el crecimiento de *A. alternata* y de ocho cepas de levaduras con potencial biocontrolador.

El contenido de compuestos fenólicos (CF) de los extractos fue caracterizado mediante cromatografía líquida. Para los ensayos de crecimiento *in vitro* del hongo se esparcieron 100  $\mu$ L de los extractos con diferentes concentraciones (100, 50, 25, 10 y 5%) en agar mosto al 3% y posteriormente se inoculó un disco de 10 mm de *A. alternata* cepa AU159 en el centro de la placa. Luego, se incubaron a 0-1 °C. La evaluación del crecimiento se realizó midiendo el diámetro de las colonias en dos direcciones, hasta que las colonias del control alcanzaron los bordes de la placa de Petri. Para evaluar el efecto sobre el crecimiento de las levaduras se prepararon concentraciones crecientes de ET y EE (10, 25 y 50% v/v) y se mezclaron en partes iguales con una suspensión de  $1 \times 10^5$  levaduras. Posteriormente se incubó a 1 °C durante 15 días. Finalmente se procedió a la determinación del crecimiento microbiano por cuantificación de la densidad óptica a 600 nm en un espectrofotómetro con lector de placas. Los resultados del contenido total y perfil de CF fueron característicos para cada extracto.

Mientras ET presentaba altas cantidades de  $\epsilon$ -viniferina y 213,3  $\mu$ g/mL de CF, EE contenía principalmente catequina y ácido caftárico y 110,5  $\mu$ g/mL de CF. Los resultados de crecimiento del patógeno mostraron que ambos extractos al 25% presentaban el mayor efecto inhibitorio. Por otro lado, en el ensayo de crecimiento de las levaduras todas las concentraciones de ambos extractos permitieron el crecimiento. Estos datos nos permiten concluir que los extractos de residuos leñosos de la vid presentan un gran potencial para el biocontrol de *A. alternata* y que su combinación con levaduras es una opción factible que deberá ser abordada en próximas investigaciones.

## EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS HALÓFILAS Y HALOTOLERANTES PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL EN EL CRECIMIENTO DE CHÍA (*Salvia hispanica* L.) EN SUELOS SALINIZADOS

María Florencia Yañez Yazlle (1,2), Michelangelo Locatelli (2), Gianina Vassallo (2), Martín Acreche (3), Neli Romano Armada (1,4), Verónica Beatriz Rajal (1,4), Verónica Irazusta (1,2)\*. (1) INIQUI, Universidad Nacional de Salta (UNSa) - CONICET. Salta, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Naturales, UNSa. (3) INTA, EEA Salta – CONICET. (4) Facultad de Ingeniería, UNSa  
\*irazustaveronica@gmail.com

Los suelos brindan servicios ecosistémicos (SE) fundamentales; sin embargo, la sobreexplotación, la agricultura intensiva y el cambio en el uso del suelo, entre otros, generan una pérdida creciente de SE, que se intensifica cuando las presiones antrópicas actúan sinérgicamente con distintos estreses abióticos. Entre ellos, la salinización es una de las problemáticas de mayor relevancia por su impacto adverso en la productividad y sostenibilidad agrícola, su ocurrencia por causas naturales y antrópicas y su rápida expansión. Una estrategia para la recuperación de suelos salinos consiste en el uso de microorganismos halófilos capaces de tolerar elevadas concentraciones de sales y promover el crecimiento de las plantas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación de bacterias halotolerantes y halófilas aisladas del Salar del Hombre Muerto (Catamarca, Argentina) en el crecimiento de chía (*Salvia hispanica* L.) en suelos salinizados.

Se evaluaron 16 tratamientos: control sin bacteria e inoculación con cultivos puros de *Micrococcus luteus* (SA211), *Bacillus* sp. (HX11), *Kushneria* sp. (T3.7), *Pseudomonas* sp. (AN23) y *Halomonas* sp. (3R.12) y diez consorcios (C1-C10) dobles resultantes de la combinación de todas las bacterias individuales. Se evaluaron tres niveles salinos, con NaCl adicionada, de distinta conductividad eléctrica: sin sal adicionada (2,75 dS/m), 4 dS/m y 6 dS/m. Se registró en las plantas de chía mortalidad, fotosíntesis, peso seco, longitud de vástago y raíz. Además, las variables se relacionaron por un índice relativo de desarrollo (IRD).

Los resultados obtenidos mostraron que con 6 dS/m la mortalidad fue del 100% en todos los tratamientos, mientras que con 4 dS/m las plantas inoculadas con T3.7, AN23, HX11 y C8 (AN23+SA211) presentaron mortalidades menores a 20%. En la condición sin sal, se observó mayor peso seco y longitud de vástago con HX11 y mayor longitud de raíz con C4 (HX11+T3.7). La tasa fotosintética en todos los tratamientos (excepto C2: T3.7+AN23 y C9: AN23+HX11) fue mayor que en el control. En la condición 4 dS/m, las plantas inoculadas con AN23, 3R.12, C1 (3R.12+T3.7) y C6 (3R.12+SA211) mostraron los mayores valores en peso seco de vástago y raíz, mientras que con AN23 y C6 mostraron las mayores longitudes de vástago. La tasa fotosintética fue mayor con AN23, SA211, C6 y C10 (SA211+HX11). A su vez, se observó que las plantas inoculadas con SA211, T3.7, y C6 presentaron las mayores longitudes de raíz. Considerando el IRD, AN23, T3.7, C6, C10 y C8 mostraron los mayores valores en 4 dS/m, mientras que, sin sal todos los tratamientos fueron mejores que el control, mostrando el potencial promotor de crecimiento vegetal de las cepas evaluadas.

En conclusión, las plantas inoculadas con AN23, T3.7, 3R12 y SA211 presentaron los mayores valores en las variables medidas por lo que se continuará su evaluación en suelos salinos a mayor escala.

## ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE COMUNIDADES PROCARIOTAS OXIDANTES DEL AMONIACO EN LA RIZOSFERA DE UN CULTIVO DE COBERTURA BAJO DIFERENTES MÉTODOS DE SUPRESIÓN

Marco Allegrini (1)\*, Marianela Estefanía Morales (2), Gastón Alejandro Iocoli (2), Jessica Basualdo (4), María Bonita Villamil (3), María Celina Zabaloy (2,4)

(1) Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR), CONICET, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, Argentina. (2) Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET), Bahía Blanca, Argentina. (3) Crop Sciences Department, University of Illinois, Urbana-Champaign, USA. (4) Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

\*allegrini@iicar-conicet.gob.ar

Las comunidades oxidantes del amoníaco desempeñan un rol clave en el ciclo del nitrógeno a través del proceso de nitrificación. Si bien el comportamiento de las comunidades nitrificantes a la fertilización ha sido extensamente estudiado, la estructura y función de las comunidades nitrificantes frente a la supresión de cultivos de cobertura invernales (CCI) se desconocen. Los procesos de rizodeposición y de degradación de residuos vegetales en plantas suprimidas mecánica o químicamente podrían influenciar diferencialmente a las comunidades oxidantes del amoníaco y las transformaciones del N asociadas a estos grupos. El objetivo de este estudio fue analizar si el método de supresión del CCI (*Avena sativa* L.) influye diferencialmente sobre la estructura de las comunidades procariotas oxidantes del amoníaco de la rizosfera.

Se realizó un ensayo a campo en bloques completos aleatorizados ( $n = 4$ ) durante los años 2018 y 2019 en un campo experimental perteneciente a la Universidad Nacional del Sur (Colonia Napostá). La supresión del crecimiento del CCI (estadio Z5.5) se realizó mediante acción mecánica (R, rolo faca de tiro manual) o química (DQ, glifosato, 3 L ha<sup>-1</sup>). Se obtuvo suelo rizosférico antes de la supresión del CCI (sin supresión, SS) en tanto la rizosfera de los tratamientos DQ y R se muestreó cuando las plantas mostraron signos claros de desecación. Se extrajo el ADN metagenómico mediante el kit DNeasy PowerSoil (Qiagen, GmbH, Alemania) para su posterior análisis mediante secuenciación masiva de amplicones del gen *amoA* con la plataforma MiSeq (Illumina) y análisis de secuencias con QIIME2. Los datos se ingresaron luego en la plataforma de detección de predictores JMP® (SAS Institute Inc.) y las unidades operativas taxonómicas (OTUs) con una contribución mayor al 10% se analizaron estadísticamente por modelos lineales mixtos en el software estadístico SAS, previa aplicación de la transformación de Aitchison (*centered-log ratio*). Se realizó también un análisis multivariado de las comunidades mediante componentes principales. El análisis funcional se llevó a cabo mediante medidas de nitrificación potencial (NP).

En los dos años de estudio no se observó una separación de las comunidades en respuesta a los diferentes tratamientos (R, DQ y SS). Asimismo, tanto las OTUs como la NP no mostraron un efecto significativo del tratamiento ( $P > 0.05$ ). El análisis filogenético de BOA indicó el agrupamiento de seis OTUs junto a secuencias del cluster 3 de *Nitrosospira* mientras que dos de las OTUs se ubicaron más próximas a representantes de los cluster 0 y 2. Los resultados demuestran que el método de supresión del CCI no ejerce un efecto significativo en la actividad nitrificante y en la estructura de dos grupos microbianos de reconocida sensibilidad como indicadores, en dos años de manejo del suelo con CCI. No obstante, se requieren estudios de mayor duración, con diferentes CCI y en distintos suelos para obtener evidencias concluyentes al respecto.

## EL MÉTODO DE SUPRESIÓN DE UN CULTIVO DE COBERTURA NO AFECTA LA ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS RIZOSFÉRICAS OXIDANTES DEL AMONÍACO EN EL CULTIVO SUCESOR

Marco Allegrini (1)\*, Marianela Estefanía Morales (2), Gastón Alejandro Iocoli (2), Jessica Basualdo (4), María Bonita Villamil (3), María Celina Zabaloy (2,4)

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR), CONICET, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET), Bahía Blanca, Argentina. <sup>3</sup>Crop Sciences Department, University of Illinois, Urbana-Champaign, USA. <sup>4</sup>Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

\*allegrini@iicar-conicet.gob.ar

Las arqueas y bacterias oxidantes del amoníaco (AOA y BOA, respectivamente) desempeñan un rol clave en el ciclo del nitrógeno, influyendo en la disponibilidad de este elemento para la planta y en las pérdidas de N por desnitrificación. Si bien la nitrificación ha sido extensamente estudiada frente a la fertilización, la estructura de las comunidades nitrificantes rizosféricas en cultivos de cosecha en respuesta a la supresión del cultivo de cobertura invernal (CCI) antecesor no ha sido abordada. El objetivo de este estudio fue determinar si el método de supresión del CCI (*Avena sativa* L.) influye diferencialmente sobre la estructura de las comunidades de AOA y BOA presentes en la rizosfera de girasol (*Helianthus annuus* L.) como cultivo sucesor (CS).

Se realizó un ensayo a campo en bloques completos aleatorizados durante los años 2018 y 2019 en Colonia Napostá (Universidad Nacional del Sur). En cada bloque cuatro parcelas se sembraron con CCI y una se mantuvo en barbecho. El CCI se suprimió mecánicamente (Rolado, "R") o químicamente ("DQ", glifosato, 3 L ha<sup>-1</sup>), en tanto que en las parcelas en barbecho ("B") el control de malezas se realizó con igual dosis de glifosato. La siembra de girasol se realizó a los 13 días de la supresión, aplicando fosfato diamónico (30 kg ha<sup>-1</sup>) a las parcelas que se destinaron a barbecho y a la mitad de las parcelas roladas ("RP") o desecadas químicamente ("DQP"). En cada año, durante la fase vegetativa, se obtuvo el suelo rizosférico de girasol y se extrajo el ADN metagenómico para su análisis mediante secuenciación de amplicones del gen *amoA* con la plataforma MiSeq (Illumina) y análisis de secuencias con QIIME2. Los datos se ingresaron luego en la plataforma de detección de predictores JMP® (SAS Institute Inc.) y las unidades operativas taxonómicas (OTUs) con una contribución mayor al 10% se analizaron por modelos mixtos en el software estadístico SAS, previa aplicación de la transformación *centered-log ratio*. En el caso de BOA, las secuencias de las OTUs se alinearon junto con secuencias del gen *amoA* de diferentes cepas para la posterior construcción de un árbol filogenético en MEGAX (método: *maximum likelihood*).

Los resultados de dos años no mostraron una separación de las comunidades en respuesta a los diferentes tratamientos. Asimismo las OTUs de AOA y de BOA no mostraron un efecto significativo del tratamiento en el análisis univariado ( $P > 0.05$ ). El análisis filogenético indicó la ausencia de OTUs del género *Nitrosomonas* y la distribución de la mayor parte de ellas entre los clusters 3a y 3b del género *Nitrospira*, excepto una (cluster 4 de *Nitrospira*). Los resultados demuestran que la supresión del CCI no ejerce una influencia diferencial sobre las comunidades procariontas oxidantes del amoníaco del CS, a pesar de la reconocida sensibilidad de estos grupos como indicadores. No obstante, deberán ser respaldados con mediciones funcionales, en estudios de mayor duración y en suelos de diferente historia de CCI.

## ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE CULTIVO DEL MICOPARÁSITO *Escovopsis weberi* POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO

Bruno Schulze\*, Diego G. Gómez, Julieta Posadas.  
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Hurlingham, Argentina  
\*schulze.bruno@inta.gob.ar

*Escovopsis weberi* es un hongo Ascomycete anamórfico con origen en una simbiosis hormiga cortadora de hojas-microorganismos que coevolucionó con estos insectos sociales. Este hongo es un necrótrofo de contacto que secreta compuestos que producen la lisis de las hifas del hongo que cultivan las hormigas, *Leucoagaricus gongylophorus*, y usa la biomasa muerta de éste como una fuente de nutrientes. Esto provoca el colapso del cultivar fúngico llevando a la muerte de la colonia por inanición. Por tal motivo, *E. weberi* resulta un agente de control promisorio contra dicha plaga. Sin embargo, para desarrollar una estrategia de control biológico usando este agente es necesario comprender mejor los factores que afectan los niveles de crecimiento vegetativo y desarrollo de conidios. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las condiciones de cultivo adecuadas para *E. weberi* por fermentación en estado sólido. Se evaluó el efecto de la temperatura, humedad, agitación, fotoperíodo, pH, tipo y cantidad de inóculo sobre el rendimiento de conidios por gramo de sustrato seco.

Se utilizó la cepa Ew1 existente en la colección del Laboratorio de Hongos Entomopatógenos de IMYZA (INTA). Se evaluaron 4 parámetros de crecimiento: temperatura (22 a 31 °C), humedad (27 a 42 %) y el efecto de la agitación y fotoperíodo. Se prepararon frascos de 1,5 l con arroz, se esterilizaron en autoclave, se inocularon con conidios y se incubaron en sala a temperatura controlada durante 15 días. Los conidios se secaron y se cosecharon por tamización. El rendimiento se determinó en cámara de Neubauer. El análisis estadístico de los resultados de rendimiento se realizó con el software Infostat con métodos lineales generalizados y distribución binomial negativa. Las condiciones de cultivo apropiadas incluyeron un rango de temperatura de 22-28°C, con incubación estática, en un rango de humedad de 32-42%. El fotoperíodo no tuvo efectos significativos sobre el rendimiento.

Bajo estas condiciones de crecimiento es posible obtener altos rendimientos de *E. weberi* lo que nos permitirá producir conidios de manera eficiente para ser implementados en un programa de manejo integrado de control de hormigas cortadoras de hojas.

## EVALUACIÓN DE SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE *Escovopsis weberi* POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO

Bruno Schulze (1)\*, Diego G. Gómez (1), Julieta Posadas (1).  
(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Hurlingham, Argentina  
\*schulze.bruno@inta.gob.ar

La cadena de producción agroindustrial genera grandes cantidades de residuos cada año. Estos pueden ser usados como fuente alternativa para la producción de distintos productos tales como biogas, biocombustibles, enzimas, alimentos y hongos, entre otros, a partir de procesos de fermentación en estado sólido. El uso de hongos como estrategias de control biológico de insectos ha tomado relevancia en las últimas décadas. Es por esto que el hongo *Escovopsis* spp. es un candidato potencial para el control biológico de hormigas cortadoras de hojas ya que es un patógeno especializado del hongo que las hormigas cultivan para su alimentación. El uso de residuos o descartes agroindustriales para la producción de biomasa fúngica con potencial para ser usado en el control biológico de insectos permite agregar valor a los residuos a la vez que permite reducir los costos. El objetivo del presente trabajo fue hallar sustratos sólidos apropiados y de bajo costo para cultivar *E. weberi*.

Para este estudio se empleó la cepa Ew1 de la colección del Laboratorio de Hongos Entomopatógenos de IMYZA (INTA). Se prepararon frascos de vidrio de 1,5 l cubiertos con papel aluminio como biorreactores, se esterilizaron en autoclave, se inocularon con suspensión de 2E08 conidios de Ew1 y se incubaron en sala a 27°C durante 15 días. Se secaron a HR de 50% y 24°C en sala durante 3 días y se cosecharon los conidios por tamización. El rendimiento se determinó en cámara de Neubauer. El análisis estadístico de los resultados de rendimiento se realizó con el software Infostat con métodos lineales generalizados y distribución binomial negativa. Los sustratos evaluados incluyeron cereales (como arroz y maíz), residuos agroindustriales (como granza de soja y descarte de molienda de trigo) y descartes de la industria alimenticia (como *crackers* y galletitas de salvado).

Los sustratos de mayor rendimiento resultaron ser afrechillo de trigo seguido de descarte de molienda de trigo, salvado de avena, arveja y alpiste. Otros sustratos evaluados de gran tamaño de partícula como cáscara de maní y pajilla de trigo pueden combinarse con los sustratos de mayor rendimiento con el fin de aumentar la porosidad del lecho de sustrato facilitando el escalado.

Utilizando los sustratos convenientes para el crecimiento de *E. weberi* es posible plantear estrategias de combinación de los mismos para obtener altos rendimientos. Esto permitiría desarrollar procesos de escalado con reducción de costos para producir conidios en grandes cantidades. La finalidad última es implementar esta producción en un programa de manejo integrado de control de hormigas cortadoras de hojas.

## DINÁMICA DEL C DE LA BIOMASA MICROBIANA DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE GLIFOSATO EN CONDICIONES DE LABORATORIO Y DE CAMPO

María A. Sterren (1)\*, Silvia Benintende (1), Walter Uhrich (1), Marianela Fontana (1), Leonardo Novelli (2), Pedro Barbagelata (1)

(1) Facultad de Ciencias Agropecuarias. UNER. Oro Verde, Argentina. (2) CONICET, Argentina  
\*maria.sterren@fca.uner.edu.ar

Las prácticas de manejo asociadas a la intensificación de la agricultura y en particular, al uso de fitosanitarios pueden alterar la funcionalidad de la microbiota del suelo. Uno de los herbicidas más utilizados a nivel mundial es el glifosato (Gli.). Su degradación está relacionada tanto a la actividad como a la masa de microorganismos, y en aquellos sistemas con buenas prácticas agrícolas se ha encontrado que la degradación del Gli. ha sido más rápida. Las condiciones controladas de laboratorio permiten el análisis del efecto del herbicida en muestras de suelo homogéneas manteniendo constantes variables tales como temperatura y humedad; aunque no se reflejan aquellas situaciones en las que el Gli. interactúa con la biota del suelo en condiciones reales de campo. El objetivo fue evaluar el impacto de la aplicación de Gli. sobre el C de la Biomasa Microbiana (CBM) en condiciones controladas de laboratorio y en condiciones reales de campo, en el corto (2 días) y mediano plazo (28 días), en suelos Molisol (M) y Vertisol (V) de la provincia de Entre Ríos con diferentes prácticas de manejo.

Los muestreos se realizaron a 2,5 cm de profundidad, en parcelas de ensayos de larga duración con dos secuencias de cultivos: Soja continua (asociada a una Pobre Práctica de Manejo: P) y secuencia Trigo/Soja-Maíz (asociada a una Buena Práctica de Manejo: B). Para los tratamientos con Gli. se utilizó una dosis de ingrediente activo (ia) de 3240 gr ia ha<sup>-1</sup>. En el ensayo de campo a cada parcela se la subdividió en dos: a una porción se le aplicó Gli, mientras que en la otra parte no se hizo aplicación de Gli. En el ensayo con condiciones controladas la aplicación se realizó en las muestras de suelos llevadas al laboratorio.

Los resultados mostraron que el CBM no respondió de la misma manera a la aplicación de Gli. cuando se lo evaluó en condiciones de laboratorio versus condiciones de campo. En condiciones de laboratorio, se encontró que en el corto plazo hubo diferencias significativas entre tratamientos y una disminución de CBM en: MB-G (4,2%, p=0,0002), VB-G (11%, p=0,042) y en VP-G (29%, p=0,001); y a los 28 días los contenidos de CBM disminuyeron en todos los casos con aplicación de Gli. y mostraron diferencias entre en MP y MP-G (9%, p=0,012) y entre VB y VB G (41%, p=0,05). En condiciones de campo, la variabilidad de los datos fue mayor y no se encontraron diferencias significativas entre las situaciones con Gli. y sin Gli. Sin embargo, se observó una tendencia en el corto plazo a inhibir el CBM cuando se aplicó Gli. al igual que en condiciones de laboratorio, mientras que, en el mediano plazo, las respuestas del CBM fueron más erráticas. En condiciones reales de campo, las variables edáficas y climáticas no controladas pueden enmascarar el efecto de tratamiento, lo cual puede afectar la variabilidad espacial en la mineralización de Gli. y utilización del C por la comunidad microbiana que puede existir entre distintos micro-ambientes en el sistema suelo.

## DINÁMICA DE LOS GRUPOS MICROBIANOS BACTERIAS Y HONGOS DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE GLIFOSATO

María A. Sterren (1)\*, Silvia Benintende (1), Walter Uhrich (1), Marianela Fontana (1), Leonardo Novelli (2), Pedro Barbagelata (1)

(1) Facultad de Ciencias Agropecuarias. UNER. Oro Verde, Argentina. (2) CONICET, Argentina  
\*maria.sterren@fca.uner.edu.ar

El glifosato (Gli.) es uno de los herbicidas más utilizados a nivel mundial. Se degrada en el suelo por la actividad microbiana y las dos vías principales son la ruptura del enlace C-P por enzimas liasas, liberando sarcosina y fosfatos, y la ruptura oxidativa del enlace C-N que libera ácido aminometilfosfónico (AMPA). La degradación está ligada al contenido de arcilla, la capacidad de intercambio catiónico, el pH y contenido de P de los suelos. La actividad agrícola en Entre Ríos se desarrolla principalmente sobre suelos Molisoles (M) y Vertisoles (V), estos últimos caracterizados por un alto contenido de arcillas montmorillonitas, las cuales tienen afinidad por el Gli. y AMPA. En estudios anteriores se encontró que en suelos de Entre Ríos con buenas prácticas agrícolas (B) hubo un mayor crecimiento de la masa microbiana debido a las mejores condiciones físico químicas que presentaron dichos suelos, y esto propició una degradación más rápida del compuesto. El objetivo fue evaluar el efecto de la aplicación del herbicida sobre la proporción de hongos y bacterias en suelos con buenas prácticas agrícolas y asociarlos a los contenidos residuales de Gli. y AMPA.

Las muestras provinieron de suelos M y V con secuencias de cultivos Trigo/Soja-Maíz (asociada a una buena práctica agrícola: B) y que están expuestas a la aplicación de Gli. desde hace más de 10 años. Para los tratamientos con Gli. se utilizó una formulación comercial de Gli. al 66,2 % PV de la sal potásica de N-fosfonometil glicina (54 % PV de equivalente ácido) y la dosis de ingrediente activo (ia) fue de 3240 gr ia ha<sup>-1</sup>. La proporción de hongos y bacterias se evaluó por la técnica de Respiración de Sustrato Inducido (SIR) y los contenidos residuales de Gli. y AMPA en suelos, por cromatografía líquida y espectrometría de masas. Las determinaciones se realizaron en el corto (2 días) y en el mediano plazo (28 días).

Los resultados mostraron que en el corto plazo los contenidos residuales de Gli. fueron de 3,76 µg kgss<sup>-1</sup> para M y 4,31 µg kgss<sup>-1</sup> para V, degradándose el 64% y el 62% del Gli. inicial respectivamente; y la aparición de AMPA se asoció a la degradación del Gli. Durante ese período los contenidos residuales de Gli. fueron mayores en V en comparación con M; y en M los mayores contenidos de P-Bray originaron una mayor liberación de Gli. susceptible a su degradación, lo cual generó más residualidad de AMPA en este suelo. También se encontró una mayor proporción de bacterias (55% en V y 54% en M) en los tratamientos con aplicación, en comparación con los hongos, lo cual hace suponer que este grupo microbiano fue más activo, específico y con un sistema enzimático más adaptado a la degradación del compuesto ya que son suelos con una larga historia agrícola y de aplicación de Gli. A los 28 días, en V la proporción de hongos y bacterias fue similar y cercana al 50% entre tratamientos, pero en M con aplicación, la proporción de hongos aumentó (52%) con respecto al período anterior (46%).

## EFFECTO DE SECUENCIAS DE CULTIVOS SOBRE GRUPOS MICROBIANOS Y CAPTURA DE C Y N EN AGREGADOS DEL SUELO

Marianela Fontana (1) \*, Maria A. Sterren (1), Leonardo Novelli (1,2), Guillermo Rondán (1), Walter Uhrich (1), Pedro Barbagelata (1,3), Silvia Benintende (1)

(1) Facultad de Ciencias Agropecuarias. UNER. Oro Verde, Argentina. (2) CONICET, Argentina.

(3) INTA EEA Paraná, Ruta 11. Km 12,5 (3100). Paraná, Argentina

\*marianela.fontana@fca.uner.edu.ar

Los microorganismos del suelo son los principales reguladores de la dinámica de C y N y responsables en gran medida de la agregación del suelo. Todo cambio en las biomásas fúngica y bacteriana como respuesta a distintas prácticas de manejo (e.g. la incorporación de cultivos de cobertura - CC), puede alterar la agregación del suelo, los contenidos totales de C y N en el mismo y la distribución en los agregados de distintos tamaños. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de los grupos microbianos sobre la agregación del suelo y la captura de C y N en distintos tamaños de agregados y secuencias de cultivos.

Este estudio se realizó en un ensayo de larga duración bajo siembra directa, en Paraná, Argentina. Se trabajó sobre cuatro tratamientos: I) monocultivo de soja fertilizado con P y S ( $S_f$ ), II) CC/soja fertilizada con P y S ( $CC/S_f$ ), III) CC fertilizado con N/soja fertilizada con P y S ( $CCN/S_f$ ) y IV) CC fertilizado con N/soja fertilizada con P y S en una rotación: trigo/soja-maíz- $CCN/S_f$  ( $CCN/S_f\ rot$ ). Los tratamientos fueron dispuestos en un diseño en bloques completos al azar (DBCA), con tres repeticiones. Se realizaron ANAVA, test de comparación de medias (LSD,  $\alpha=0,05$ ) y análisis de correlación. Se recolectaron muestras de suelo a 0-5 cm en mayo de 2019. Sobre una porción se determinó C de biomasa microbiana (CBM), fúngica (CBF) y bacteriana (CBB), y la restante se utilizó para determinar la agregación, separándose por tamizado en húmedo en macroagregados ( $>250\mu m$ ) y microagregados ( $53-250\mu m$ ). Los agregados se secaron en estufa a  $105^\circ C$  y se determinó: %C y %N en macroagregados ( $C_{macro}$  y  $N_{macro}$ ) y en microagregados ( $C_{micro}$  y  $N_{micro}$ ). Los contenidos de C y N se transformaron a stock ( $Mg\ ha^{-1}$ ) utilizando la densidad aparente de suelo. Se encontraron diferencias en las variables CBM y CBB. En ambos casos  $S_f$  mostró los menores valores que los tratamientos con CC, presentando en promedio un 25% menos de CBM y un 52% menos de CBB.  $S_f$  mostró 20% menos de macroagregados pero 56% más de microagregados, respecto a los tratamientos con CC. Los stocks de  $C_{micro}$  y  $N_{micro}$  no difirieron entre tratamientos. Sin embargo,  $C_{macro}$  decreció entre tratamientos de la siguiente manera:  $CCN/S_f > CC/S_f > CCN/S_f\ rot < S_f$ . El  $N_{macro}$  fue en promedio un 24% menor en  $S_f$  que en los tratamientos con CC. Se encontraron correlaciones positivas entre CBM y: %macroagregados ( $r=0.89$ ,  $p<0.001$ ),  $C_{macro}$  ( $r=0.86$ ,  $p<0.001$ ),  $N_{macro}$  ( $r=0.84$ ,  $p<0.001$ ), mientras que se correlacionó negativamente con % microagregados ( $r=-0.71$ ,  $p=0.01$ ). También se observaron correlaciones significativas entre CBB y las variables de agregación mencionadas anteriormente.

La inclusión de CC en secuencias dominadas por soja, favoreció a los microorganismos de suelo, específicamente a las bacterias, y se relacionaron con una mayor captura de C y N en los macroagregados.

## EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE LEVADURAS SELECCIONADAS Y DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO FÁCILMENTE ASIMILABLE SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE HIDROMIELES

Alejandra Orellana (1), Santiago Sari (1), Gina Marini (2), Horacio Peinado Manzur (2), Mónica Gaggiotti (3), Magalí González (1,4), Laura Mercado (1), Mariana Combina (1,4), Ariel Massera(1)\*

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - EEA Mendoza, Luján de Cuyo, Argentina.

(2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - EEA La Consulta, La Consulta, Argentina.

(3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - EEA Rafaela, Rafaela, Argentina. (4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*massera.ariel@inta.gob.ar

Argentina es el quinto productor y el segundo exportador mundial de miel a granel. Un producto atractivo para el agregado de valor en miel es la elaboración de hidromiel. Esta bebida se obtiene mediante la fermentación alcohólica (FA) de miel diluida en agua potable realizada por levaduras del género *Saccharomyces*. Durante la FA se pueden presentar inconvenientes debido a distintos factores como la deficiencia en nutrientes para las levaduras que tiene la miel (contenido de nitrógeno fácilmente asimilable, vitaminas y minerales), la capacidad de las levaduras para fermentar el mosto de miel y las condiciones en las que se realiza la FA (temperatura y pH). Entre las estrategias tecnológicas para evitar estos inconvenientes se encuentran la búsqueda de levaduras adecuadas que funcionen como starter y la modificación de condiciones del mosto que permitan una adecuada FA. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la utilización de diferentes concentraciones iniciales de nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) sobre los parámetros fermentativos de cepas de levaduras *Saccharomyces* spp. nativas y comerciales utilizadas en la producción de hidromiel.

El ensayo se llevó a cabo con un mosto de miel fue preparado según protocolo para obtener hidromieles semidulces, el cual se dividió en 3 lotes a los que se les adicionó Fermaid K 30 g/hL y diferentes cantidades de difosfato de amonio para obtener distintas concentraciones iniciales de NFA (60 mg/L, 150 mg/L y 240 mg/L). Cada lote fue dividido en recipientes con 4 L de mosto de miel a los que se les inocularon por separado tres cepas de levaduras *Saccharomyces* comerciales (EC1118, F15 y US-05) y 2 cepas nativas (MaB-2C y ULA-61) y se dejó un control sin inocular. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado. La FA se llevó a cabo a 23 °C y fue monitoreada por pérdida de peso, mientras que las poblaciones de levaduras se siguieron por recuento en medios de cultivo específicos. Se consideró que la FA había finalizado cuando se obtuvo una diferencia de peso menor a 5 g entre los pesos obtenidos durante 3 días. En la miel utilizada y en las hidromieles obtenidas se hicieron análisis fisicoquímicos.

Las cepas MaB-2C, ULA-61 y US-05 fueron las cepas que presentaron mayor velocidad de fermentación; mientras que MaB-2C, EC1118 y US-05 terminaron antes la FA de los ensayos con NFA 150 y 240 mg/L. En cuanto a las características fisicoquímicas de las hidromieles usando estas concentraciones iniciales de NFA, las levaduras EC1118, F15 y MaB-2C fueron las que generaron mayor concentración de alcohol, dejaron menos azúcares reductores y produjeron menor acidez volátil. Si bien se observaron diferencias significativas entre las levaduras utilizadas, la inoculación de cepas seleccionadas incrementó la velocidad de fermentación y redujo el tiempo total del proceso. Las características fisicoquímicas de las hidromieles se vieron afectadas por concentración inicial de NFA y por la levadura inoculada.

## COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD OVICIDA DE HONGOS SAPRÓFITOS DEL SUELO CONTRA HUEVOS DE *Toxocara canis*

María V. Bojanich (1, 2)\*, María de los A. López (1, 2), Laura Formichelli (2), Marcelo G. Medina (2), Gustavo Giusiano (2), Juan A. Basualdo (3)

(1) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina. (2) Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Chaco, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

\*vivianabojanich@gmail.com

Los hongos ovicidas son hongos del suelo que atacan los huevos de los helmintos durante su fase de vida libre. Son saprófitos y pueden sobrevivir mucho tiempo en el suelo. Las propiedades ovicidas de los hongos difieren en la forma en que destruyen los huevos, la cantidad de huevos que pueden atacar en un determinado período y el grado de destrucción de los mismos. El presente trabajo tiene como objetivo comparar la acción ovicida *in vitro* de cuatro especies fúngicas sobre huevos de *Toxocara canis*.

Se eligieron *Chrysosporium indicum*, *Chrysosporium keratinophyllum*, *Curvularia lunata* y *Trichofyton ajelloi*, para realizar los ensayos de interacción con huevos de *T. canis*. Dichos ensayos fueron realizados enfrentando por duplicado huevos de *T. canis* con un cultivo en agar agua al 2% de los hongos mencionados y un grupo control. La acción ovicida fue evaluada por microscopía óptica. La observación microscópica fue realizada con azul de lactofenol y fueron contados y observados 100 huevos. El mismo procedimiento se hizo con el grupo control. Para la observación microscópica, los huevos fueron clasificados arbitrariamente en embrionados, larvados y afectados, entendiéndose por afectados cuando se observaban cambios en las características normales de los huevos: alteraciones en la cubierta (adelgazamiento y mayor permeabilidad), hifas rodeando o penetrando los huevos, desorganización y vacuolización del interior y larvas vacuoladas e inmóviles. La actividad ovicida se determinó considerando 5 niveles de actividad: nivel 1: sin actividad ( $\leq 15\%$  huevos afectados), nivel 2: actividad baja ( $\geq 15-20\%$  de huevos afectados), nivel 3: actividad intermedia (21-49% de huevos afectados), nivel 4: actividad alta (50-79% de huevos alterados) y nivel 5: muy alta actividad ( $\geq 80\%$  de huevos afectados).

Como resultado de la interacción aparecen *Ch. indicum* y *Ch. keratinophyllum* afectando el 72,7% y el 74 % de huevos, respectivamente. Para ambos, el efecto ovicida es alto. *C. lunata* muestra también una acción ovicida alta (78,7%), en tanto que *T. ajelloi*, lo hace en muy bajo porcentaje, 18%. Las interacciones observadas al microscopio óptico fueron: para *Ch. indicum*: hifas rodeando o penetrando los huevos, cambios en la membrana del huevo (cubierta adelgazada y sin la trama fosemada característica) y larvas vacuoladas. Para *Ch. keratinophyllum*: cubierta adelgazada, embrión vacuolado e hifas penetrando y rodeando el huevo. *C. lunata*: afecta sobre todo el embrión y evita el desarrollo a larva de estadio 2, provoca el adelgazamiento de la cubierta y aumento de la permeabilidad y las hifas pueden penetrar y desarrollarse en el interior del huevo. Para *T. ajelloi*: la cubierta adelgazada, el crecimiento hifal en el interior del huevo y la vacuolización del contenido.

Por lo expuesto se puede concluir que las interacciones hongos saprófitos-huevos de *T. canis* son muy variables y dependen de la especie fúngica y conllevan acciones mecánicas, como las descritas.

**MICROORGANISMOS EPIFÍTICOS DE ARÁNDANO CON ACTIVIDAD ANTAGONISTA  
FRENTE A *Botrytis cinerea***

Florencia Isabel Chacón (1), Mariana Andrea Díaz (1), Martina María Pereyra (1),  
Flavia Ivana Mansilla (1), Sabrina Inés Volentini (3), Julián Rafael Dib (1,2)\*.

(1) PROIMI (Planta Piloto de Procesos Industriales y Microbiológicos), CONICET, San Miguel de Tucumán, Argentina. (2) Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, UNT. (3) INSIBIO (Instituto Superior de Investigaciones Biológicas)-CONICET, San Miguel de Tucumán, Argentina.

\*jdib@conicet.gov.ar

Tucumán se destaca a nivel nacional como la segunda provincia productora y la primera exportadora de arándanos (*Vaccinium corymbosum*). Entre los problemas en la etapa postcosecha, el desarrollo de pudriciones fúngicas ocupa un lugar preponderante, siendo *Botrytis cinerea* (agente causal de la podredumbre gris) uno de los principales fitopatógenos. Para su control se aplican fungicidas sintéticos antes de la cosecha y el almacenamiento de la fruta se realiza a baja temperatura. Sin embargo, se ha reportado la aparición de cepas resistentes de *B. cinerea* a más de una clase de fungicidas. Además, el uso extensivo de estos genera contaminación ambiental y efectos deletéreos en la salud humana. Actualmente no se disponen de alternativas eficientes de tratamientos postcosecha. Frente a esta situación el control biológico con microorganismos nativos surge como una alternativa segura y sustentable.

Así, el objetivo del presente trabajo fue la búsqueda de bacterias y levaduras epifíticas de arándano con capacidad biocontroladora frente a *B. cinerea*. Se realizó un aislamiento de microorganismos epifíticos de arándanos de una finca local, se determinaron sus actividades antagonistas frente a *B. cinerea* mediante ensayos *in vitro* de cultivo dual en placa y se evaluó la eficiencia de biocontrol *in vivo* en frutos de frescos de arándano.

Se obtuvieron 56 aislamientos de flores y frutos de arándano, de los cuales 23 correspondieron a bacterias y 33 a levaduras. En la determinación de actividad antagonista, 4 cepas de bacterias (BA3, BA4, BF5 y BMEF1) y una cepa de levadura (LF12) inhibieron significativamente el crecimiento del fitopatógeno en condiciones *in vitro*. En condiciones *in vivo*, estas cepas presentaron un elevado nivel de protección en los frutos frente a la infección por *B. cinerea*, con eficiencias de control de entre 63,33 y 100 %.

Así los resultados demostraron que los aislamientos BA3, BA4, BF5, BMEF1 y LF12 constituyen candidatos para generar potenciales agentes alternativos de control en el tratamiento de la podredumbre gris causada por *B. cinerea*.

***Pseudomonas* sp. 42P4 Y *Azospirillum brasilense* AZ39 INCREMENTAN EL RENDIMIENTO Y LA CALIDAD DE TOMATE PARA INDUSTRIA**

María Micaela Pérez-Rodríguez (1), Mariela Pontin (1,2), Víctor Lipinski (2), Miguel Lobato Ureche (1), Martín López (1), Iván García Escobar (1), Ana Laura Viani (1), Cecilia Ailén Chimeno (1), Ana Cohen (1)\*

(1) IBAM-FCA (CONICET-UNCUYO), Almirante Brown 500, (5505) Chacras de Coria, Mendoza, Argentina. (2) EEA La Consulta-INTA Ex Ruta 40, Km 96. (5567) La Consulta, San Carlos Mendoza, Argentina.

\*acohen@fca.uncu.edu.ar

El tomate, es el segundo cultivo más importante a nivel mundial después de la papa. Argentina ocupa el puesto N° 12 en la producción mundial de tomate para industria, siendo Mendoza una de las principales provincias productoras. La demanda de productos elaborados a base de tomate ha experimentado fluctuaciones debido a los comportamientos del mercado; sin embargo, la producción no alcanza a satisfacer la demanda interna. Tradicionalmente se han utilizado diversos agroquímicos para incrementar el rendimiento de los cultivos, pero su uso excesivo ha generado impactos negativos en el ambiente, como degradación de suelos y contaminación del agua. Es por ello que surge la necesidad de incrementar la producción de tomate en forma sustentable. La utilización de Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) constituye una alternativa para incrementar la producción reduciendo los problemas que trae aparejado la utilización excesiva de fertilizantes. *Pseudomonas* sp. 42P4 es una cepa PGPR aislada de la rizósfera de tomate.

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación radical de plantines con *Pseudomonas* sp. 42P4 y *Azospirillum brasilense* Az39 en el rendimiento y calidad de tomate a campo. Para ello plantines de 15 días de la variedad UCO 14 fueron inoculados por única vez con los siguientes tratamientos: 1) Control (solución de NaCl 0,85 %); 2) Fertilizado (solución de Hakaphos, 7 g L<sup>-1</sup>); 3) *A. brasilense* AZ39 y 4) *Pseudomonas* sp.42P4. Luego se trasplantaron a campo con un sistema de riego por goteo. En etapa reproductiva se midió el diámetro del tallo, contenido relativo de clorofila y eficiencia fotosintética del fotosistema II (Fv/Fm). Luego, en el momento de cosecha se evaluó el rendimiento (número y peso de frutos por planta), tamaño y calidad de frutos. Las plantas inoculadas y fertilizadas presentaron un mayor diámetro del tallo y contenido relativo de clorofila con respecto a las plantas control. La inoculación con las cepas produjo incrementos en el número y peso de frutos por planta (similar al tratamiento de fertilización), así como del diámetro y largo de frutos, con respecto al tratamiento control. En cuanto a los parámetros de calidad, no hubo variaciones en el pH ni acidez titulable de los frutos; sin embargo, se registró un incremento en el contenido de sólidos solubles con los tratamientos de inoculación.

Los resultados de este trabajo sugieren que la inoculación con las cepas PGPR *A. brasilense* AZ39 y *Pseudomonas* sp. 42P4 puede ser útil para reducir el uso de fertilizantes, manteniendo/mejorando la producción y calidad de tomate industrial a campo. Esto traería aparejado beneficios económicos y ambientales en el marco de una agricultura sustentable.

## LAS CEPAS PGPR 60I1 Y 42P4 SOLAS O COMBINADAS INCREMENTAN EL CRECIMIENTO Y LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS DE PIMIENTO EN CONDICIONES DE CAMPO

Miguel Andrés Lobato Ureche (1)\*; María Micaela Pérez Rodríguez (1); Emiliano Malovini (2); Pablo Ventura (2); María Gabriela Gordillo (3); Romina Paula Monasterio (1); Ana Carmen Cohen(1)\*

(1) Instituto de Biología Agrícola de Mendoza - Facultad de Ciencias Agrarias (CONICET-Universidad Nacional de Cuyo), Chacras de Coria, Mendoza, Argentina. (2) Tecnosiembra, Nicolás Serpa s/n, Rodeo del Medio, Mendoza, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Cuyo, Ciudad de Mendoza, Mendoza, Argentina.

\*acohen@fca.uncu.edu.ar, miguelobatoureche@gmail.com

Los pimientos son productos hortícolas de alto valor económico y nutricional, con una gran aceptación en el mercado internacional. La comercialización de pimiento presenta una tendencia al alza debido al incremento de la población mundial, lo cual ha favorecido el aumento de su uso a nivel industrial. La mayor parte del pimiento cultivado en la provincia de Mendoza corresponde al tipo Calahorra, destinado a la industria conservera. Sin embargo, la producción intensiva de hortalizas conlleva un uso de grandes cantidades de agroquímicos que en ocasiones causan efectos negativos en el ambiente. En este contexto, los biofertilizantes surgen como una estrategia importante para mitigar los efectos deletéreos ocasionados por el uso de agroquímicos. Estos productos favorecen la nutrición y protección de la planta. Algunos biofertilizantes están compuestos por rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, conocidas por sus siglas en inglés como (PGPR, Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Las PGPR constituyen una alternativa sustentable para el manejo de agroecosistemas, esto es debido al bajo costo de implementación e impacto ambiental y al efecto positivo en el rendimiento de diferentes cultivos con importancia económica mundial. Las PGPR pueden proporcionar nutrientes esenciales como N, P y Fe, para lo cual utilizan mecanismos como la fijación biológica de N, la solubilización de formas insolubles de P inorgánico y la producción de sideróforos. Además pueden producir reguladores del crecimiento o inducir cambios en los niveles de los mismos en las plantas inoculadas y en los niveles de compuestos fenólicos.

Dada la importancia del cultivo de pimiento para provincia de Mendoza y en vista de la necesidad de promover prácticas agrícolas sustentables que disminuyan la contaminación ambiental, se realizó un experimento en campo en el cual se inocularon plantas de pimiento cv. Calafyuco con PGPR nativas de Mendoza. Se estableció un diseño aleatorizado de 4 tratamientos, con tres repeticiones de 15 plantas cada uno. Los plantines con un par de hojas verdaderas se inocularon con 1000 µl de las cepas seleccionadas de acuerdo a los siguientes tratamientos: 1) control, 2) cepa 60I1, 3) cepa 42P4 y 4) coinoculación 60I1+42P4. Durante el ciclo del cultivo se evaluaron variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, en la época de cosecha se evaluó el componente rendimiento. Los datos se analizaron por medio de análisis de varianza. Las cepas 60I1 y 42P4 solas y combinadas se diferenciaron del tratamiento control, incrementando significativamente la altura de la planta, el diámetro del tallo, índice de clorofila (SPAD), número de frutos, peso seco, espesor de la pared, diámetro y longitud del fruto.

Los resultados de este trabajo sugieren que la inoculación con las cepas 60I1 y 42P4 solas o combinadas puede ser útil para reducir el uso de fertilizantes, mejorando la producción y calidad del pimiento industrial a campo.

**CARACTERIZACIÓN DE LOS RESERVORIOS Y LA BIODIVERSIDAD DE LEVADURAS  
*Saccharomyces cerevisiae* EN UN VIÑEDO COMERCIAL DURANTE UN CICLO  
FENOLOGICO COMPLETO DE LA VID**

González M.L. (1), Chimeno V. (2), Sturm M.E. (2), Lerena M.C. (1,2), Massera A. (2), Combina M. (1,2), Mercado L. (2,3)\*

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. (2) Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA Mza INTA), Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina. (3) Universidad Nacional de Cuyo, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

\*mercado.laura@inta.gob.ar

La vitivinicultura constituye una actividad de amplia tradición e impacto económico en Mendoza. La Zona Alta del Río Mendoza (ZARM) es la principal región donde se cultiva el Malbec, vino emblemático argentino. *Saccharomyces cerevisiae* es la principal levadura responsable de la fermentación alcohólica con impacto en la composición del vino y se acepta que el viñedo es el hábitat natural de estas, siendo las uvas la principal fuente de levaduras. La vid tiene un ciclo de crecimiento anual y por ello necesita una secuencia específica de condiciones ambientales para renovar sus tejidos. Esto plantea la posibilidad de que otros reservorios del viñedo refugien a *S. cerevisiae* cuando la uva no está disponible en el ciclo anual.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la biodiversidad y la persistencia de *S. cerevisiae* en un viñedo comercial de variedad Malbec de la ZARM, para conocer sus reservorios y la relación de la diversidad encontrada con las condiciones meteorológicas durante el ciclo de la vid. Se seleccionaron diez sitios en la parcela y se aislaron (previo enriquecimiento y siembra en medio ÁGAR WL) las poblaciones de *S. cerevisiae* de muestras de suelo, uvas, corteza, yemas, *mulching* de orujo y semillas a lo largo de seis etapas (madurez, poda de invierno, brotación, envero temprano, envero avanzado y madurez) del ciclo de crecimiento de la vid 2010-2011. Los aislados se diferenciaron intra-específicamente por PCR interdelta definiendo diferentes patrones moleculares según el perfil de amplificación. Se utilizó el software PAST 3.21 para el análisis estadístico de los datos.

En total se obtuvieron 1295 colonias *S. cerevisiae* que fueron tipificadas en 41 patrones moleculares. Se confirmó un cambio dinámico en las poblaciones y una sustitución de cepas de *S. cerevisiae* en cada etapa del ciclo evaluado. Todos los patrones moleculares de las uvas de la cosecha 2011 fueron aislados antes, evidenciando una elevada persistencia de *S. cerevisiae* en este viñedo. La mayor diversidad de patrones moleculares se obtuvo en las uvas de cosecha, pero en el año 2011 también fue importante la diversidad en las cortezas y el *mulching*. Cuando la biodiversidad disminuyó en el invierno, los reservorios fueron el suelo, las cortezas y las yemas. Desde la brotación, las cortezas tuvieron la mayor diversidad de cepas. La aplicación del *mulching* facilitó la entrada de cepas *S. cerevisiae* procedentes de la bodega al viñedo. El análisis de las poblaciones de *S. cerevisiae* reveló una alta diferenciación entre los diferentes nichos del viñedo y la temperatura fue el principal factor que impulsó la diferenciación de las mismas. Los resultados sugieren que las cortezas y las yemas actuarían como reservorios de *S. cerevisiae* en el invierno, permitiendo que colonicen las uvas y otros tejidos en la vendimia siguiente. Asimismo, el uso de desechos de bodega como abono del viñedo puede impactar en la biodiversidad de *S. cerevisiae*, introduciendo levaduras comerciales al mismo.

## EFFECTO DEL USO DE UN BIOFERMENTO BASADO EN ESTÍERCOL BOVINO SOBRE LA MICROBIOTA EDÁFICA CULTIVABLE Y LA PRODUCCIÓN INVERNAL DE UNA PASTURA PERENNE

Orlando Oleszuk (1), Facundo J. Marcos Valle (1)\*, Florencia Jaimes (1), Néstor Maceira (2),  
Jorge Castaño (2)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias (UNMDP), Balcarce, Argentina. (2) EEA Balcarce (INTA).

\*fmarcosvalle@mdp.edu.ar

En el sudeste bonaerense (Argentina), las tasas de crecimiento de las pasturas perennes disminuyen durante el invierno, lo que suele corregirse con fertilización nitrogenada. Sin embargo, aumentos de la acidez del suelo y alteraciones en la microbiota edáfica han sido reportados en suelos con excesiva fertilización sintética. En respuesta a esto, surgen métodos alternativos como el uso de bioinsumos.

El objetivo fue evaluar los efectos del fertilizante sintético (urea) y un biofermento a base de estiércol bovino enriquecido con sales minerales sobre la microbiota edáfica y la producción forrajera invernal de una pastura de festuca (*Festuca arundinacea*) y alfalfa (*Medicago sativa*). Se evaluaron tres tratamientos de fertilización (testigo, 150 kg ha<sup>-1</sup> urea y 170 litros ha<sup>-1</sup> biofermento), sobre tres ambientes productivos contrastantes. Durante el período invernal se realizaron tres muestreos: inicial (julio) y dos fechas post fertilización (septiembre y noviembre). Las variables microbianas edáficas determinadas fueron: recuento de bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT), *Pseudomonas* fluorescentes (PF), actinobacterias (ACT), hongos filamentosos y levaduras (HFyL). Se determinó la producción de biomasa de la pastura (gramíneas y leguminosas).

El biofermento evaluado presentó un pH de 5,39, 0,25% de N total, ausencia de PF y ACT viables cultivables, y recuentos de BAMT y HFyL de 6,24 y 6,46 log<sub>10</sub> UFCmL<sup>-1</sup>, respectivamente. El recuento de BAMT en suelo evidenció interacción significativa entre el tratamiento de fertilización, la productividad del lote y la fecha de muestreo (p<0,05). Con respecto al recuento de HFyL, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización evaluados (p>0,05), aunque suelos de alta productividad presentaron mayores recuentos que los de baja productividad (p<0,05). El suelo con biofermento evidenció iguales o mayores recuentos de PF y ACT que los restantes tratamientos, aunque estos resultados fueron afectados también por la productividad y la fecha analizada (p<0,05). Los recuentos de PF más bajos se obtuvieron en zonas de alta productividad con aplicación de urea (2,65 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>) y el recuento más elevado en la zona de baja productividad y aplicación de biofermento (3,62 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup>). La producción forrajera invernal fue significativamente superior con aplicación de urea (6.515 kg MS ha<sup>-1</sup>), favoreciendo a las gramíneas (p<0,05). Con aplicación de biofermento, se evidenció una mayor biomasa de leguminosas (805 kg MS ha<sup>-1</sup>) respecto a los tratamientos restantes (p<0,05) y una biomasa total similar al testigo (5.177 kg MS ha<sup>-1</sup>).

En conclusión, la aplicación del biofermento evidenció respuestas favorables en los recuentos de los grupos bacterianos específicos y de importancia agronómica (PF y ACT) y provocó un aumento en la producción de biomasa de leguminosas que permitiría aumentar la calidad del forraje invernal mejorando la sustentabilidad del agroecosistema.

## EFFECTO ANTAGÓNICO DE BACTERIAS PROBIÓTICAS AISLADAS DE AMBIENTES ACUÁTICOS PATAGÓNICOS CONTRA *Flavobacterium psychrophilum*, UNO DE LOS PRINCIPALES PATÓGENOS EN EL CULTIVO DE TRUCHA ARCOÍRIS

Melania Fernández (1,2), Pablo Moreno (3), Virginia Bianchi (4), María Amelia Cubitto (5) y Cynthia Sequeiros (1)\*

(1) Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR CONICET CENPAT), Puerto Madryn, Argentina. (2) Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Provincia de Chubut, Argentina. (3) Centro de Ecología Aplicada del Neuquén (CEAN), Junín de los Andes, Argentina. (4) Laboratorio de Ecotoxicología Acuática (LEA), INIBIOMA (CONICET-UNCo), Argentina. (5) Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina

\* sequeiro@cenpat-conicet.gob.ar

El sector acuícola ha comenzado a utilizar probióticos como herramienta natural y bio-compatibles con el ambiente para controlar y minimizar enfermedades bacterianas. *Flavobacterium psychrophilum* es una bacteria psicrófila Gram-negativa, conocida por ser el agente causante de la enfermedad bacteriana de agua fría (BCWD) y responsable de significativas pérdidas económicas en la industria del cultivo de trucha arcoíris. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de 13 cepas con potencial probiótico previamente caracterizadas en nuestro grupo de investigación (CESIMAR e IPEEC CONICET CENPAT) sobre una cepa de *F. psychrophilum* aislada y caracterizada por integrantes del CEAN y LEA INIBIOMA-CONICET.

Trece cepas autóctonas de Patagonia previamente aisladas de ambientes acuáticos: *Carnobacterium* sp. T4, T15 y M5, *Bacillus* sp. TR15, CA1 y T39, *Lactobacillus pentosus* H16, *Lactococcus lactis* TW34 y los *Lactobacillus* sp. ME19, M17, M26, T30 y T31 fueron cultivadas en medio de líquido, las cepas pertenecientes al grupo de las bacterias ácido lácticas en medio MRS y las pertenecientes al género *Bacillus* en TS, todas por 24 h a 25°C. Los sobrenadantes libres de células se recuperaron por centrifugación y fueron analizados mediante el método de difusión en agar. La cepa *F. psychrophilum* fue previamente aislada del riñón de individuos moribundos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de pisciculturas de la provincia de Neuquén. Esta cepa fue usada como indicadora y cultivada en medio TYES por 48 h a 17°C. Al ser una cepa psicrófila, sensible a la temperatura, no pudo ser sometida a temperaturas mayores a 25°C por lo que el crecimiento de la misma se realizó en superficie mediante hisopo. De las 13 cepas evaluadas 7 presentaron actividad antimicrobiana contra el *F. psychrophilum*. Los diámetros de los halos de inhibición para las diferentes cepas fueron: H16 (3,55 cm), TW34 (2,9 cm), ME19 (2,45 cm), M17 (2,9 cm), M26 (2,9 cm), T30 (3,05 cm) y T31 (3,45 cm). Para evaluar la naturaleza del agente antimicrobiano los sobrenadantes fueron neutralizados a pH 6,5. Los resultados mostraron que para 5 de las cepas la inhibición fue causada por ácidos orgánicos, los dos restantes continuaron presentando halos de inhibición, aunque más pequeños (T31:1,2 cm y TW34: 1 cm), indicando que el agente podría ser peróxido de hidrógeno o alguna bacteriocina. En consecuencia, se propone seguir evaluando la naturaleza de los agentes antimicrobianos de estas dos cepas y comenzar los estudios de la cepa de *L. lactis* TW34 y las 6 del género *Lactobacillus* (H16, ME19, M17, M26, T30 y T31) como agentes de control biológico contra el patógeno *F. psychrophilum*.

## ESTUDIOS ESTEQUIOMÉTRICOS Y CINÉTICOS DEL CRECIMIENTO DE *Aureobasidium pullulans* GM-R-22 EN UN REACTOR A ESCALA LABORATORIO PARA LA PRODUCCIÓN DE UNA POLIGALACTURONASA (PARA ENOLOGÍA)

María Gabriela Merín (1,2), Brenda Bezus (3), Sebastián Cavalitto (3), Vilma Inés Morata de Ambrosini (1,2), Ivana Cavello (3)\*

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (2) Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional de Cuyo, San Rafael, Argentina. (3) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP, CCT La Plata-CONICET, Calle 47 y 115, 1900-La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

\*icavello@biotec.quimica.unlp.edu.ar

San Rafael D.O., región vitivinícola del oeste argentino, presenta un microclima especial que contribuye a distinguir sus viñedos y permite la elaboración de vinos mundialmente reconocidos. Las pectinasas son usadas en enología para degradar los polímeros pécticos de la uva, aumentando la extracción de jugo y compuestos de color y aroma atrapados en el hollejo, mejorando el bouquet del vino y las propiedades de clarificación. Actualmente, los preparados pectinolíticos son pools parcialmente purificados de origen fúngico, que pueden contener impurezas y actividades no deseadas generando un impacto negativo en la calidad del vino. Una alternativa al uso de estos preparados sería la búsqueda de levaduras autóctonas capaces de producir pectinasas aplicables a la vinificación. *Aureobasidium pullulans* GM-R-22, hongo levaduriforme autóctono de la D.O. San Rafael, presenta capacidad de producir pectinasas activas en condiciones enológicas. Su potencial aplicación en vinificación hace que estudios de crecimiento y producción enzimática a escala de reactor tipo tanque agitado sea necesario en vista de una posible producción a gran escala.

Los parámetros cinéticos y estequiométricos del crecimiento de *A. pullulans* se determinaron utilizando un medio sintético de referencia en un reactor Inceltech LH 210 con 1.5 L de volumen útil. La producción del pool pectinolítico se estudió en el mismo reactor, pero utilizando un medio complejo con pectina cítrica como inductor, y el extracto enzimático resultante se caracterizó bioquímicamente.

En el medio de referencia con glucosa como fuente de carbono y urea como fuente de nitrógeno, la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ) fue de  $0.15 \text{ h}^{-1}$ . Los rendimientos en biomasa ( $Y_{x/s}$ ) y en  $\text{CO}_2$  obtenidos fueron  $0.56 \text{ C}_{\text{mol}}/\text{C}_{\text{mol}}$  y  $0.44 \text{ molCO}_2/\text{C}_{\text{mol}}$ , respectivamente. Durante las 29 h de cultivo se consumieron 79.428 mmoles de  $\text{O}_2$  y se produjeron 70.25 mmoles de  $\text{CO}_2$ . Los balances de carbono y de grado de reducción arrojaron valores cercanos a 1, indicando un metabolismo oxidativo donde no hay productos asociados a la obtención de energía. No se detectó actividad poligalacturonasa (PGasa) en este medio de cultivo. Sin embargo, al utilizar un medio complejo con pectina se constató la presencia de actividad PGasa con un máximo de  $1.03 \pm 0.05 \text{ U/ml}$  a las 29 h. Durante las 29 h de cultivo se consumieron 166.17 mmoles de  $\text{O}_2$  y se produjeron 121.16 mmoles de  $\text{CO}_2$ , con un  $\mu_{m\acute{a}x}$  de  $0.16 \text{ h}^{-1}$ . La caracterización bioquímica parcial del extracto enzimático demostró que el mismo tiene una actividad PGasa óptima a pH 4.0 y  $55 \text{ }^\circ\text{C}$ . Presenta afinidad por pectinas de diferentes grados de metoxilación, siendo mayor frente a pectina del 92%. El SDS Page acoplado a zimograma muestra una única banda con actividad PGasa de 50 kDa.

Este trabajo presenta los primeros resultados a escala de reactor necesarios para el posterior diseño de cultivos a mayor escala y la caracterización bioquímica como herramienta de control de la actividad enzimática obtenida.

## ANÁLISIS *IN SILICO* DEL GENOMA DE *Bacillus thuringiensis* M401, CEPA CON RESISTENCIA A TETRACICLINA Y POTENCIALES APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS

Florencia Lamelza (1), Ana C. López (1,2), Gonzalo A. Torres Tejerizo (2,3), Adriana M. Alippi (1,4)\*

(1) Unidad de Bacteriología, Centro de Investigaciones de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. (2) Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina (CONICET-CCT La Plata), La Plata, Argentina. (3) IBBM (Instituto de Biotecnología y Biología Molecular), Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. (4) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICBA), Argentina.

\*alippi@biol.unlp.edu.ar

La loque americana es la enfermedad más grave de la etapa larval de las abejas (*Apis mellifera* L.) causada por la bacteria esporulada *Paenibacillus larvae*. Debido a su alta virulencia y facilidad de transmisión y diseminación, presenta serios problemas para su control, particularmente desde la aparición de cepas del patógeno resistentes a tetraciclina y la consecuente prohibición del uso de antibióticos en colmenas. Con el objetivo de buscar alternativas naturales no contaminantes para la prevención y el control de esta enfermedad, se analizaron diferentes cepas bacterianas del género *Bacillus* con actividad antagónica frente a *P. larvae*. En particular, se estudió la cepa *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) m401, aislada de miel y resistente a tetraciclina. *Bt* m401 presentó una muy buena actividad antagónica *in vitro* contra los genotipos I y II de *P. larvae* con mayor prevalencia a nivel mundial.

Utilizando la base de datos EDGAR, se comparó el genoma completo de *Bt* m401 con cepas pertenecientes al grupo *Bacillus cereus sensu lato*, incluyendo todos los serovares de *Bt* secuenciados hasta el momento (n=52). El árbol filogenético obtenido ubicó a la cepa *Bt* m401 en el mismo grupo que los serovares *kumamotoensis*, *yunnanensis*, *indiana*, *londrina*, *coreanensis*, *kurstaki* y *galleriae*, entre otros. Utilizando los serovares más cercanos (n=13) se realizó el cálculo del promedio de identidad de nucleótidos (ANIb). La matriz obtenida indicó que *Bt* m401 posee un mayor porcentaje de similitud con *B.t. sv. kumamotoensis* (98,11%). Este resultado fue corroborado por el análisis filogenético del gen *gyrB* que permite distinguir entre serovares de *Bt*, concluyendo que la cepa m401 pertenece al serovar *kumamotoensis*.

En el cromosoma bacteriano se corroboró la presencia del gen de resistencia a tetraciclina *tet*(45) y se identificaron secuencias homólogas a genes de virulencia [*cytK*, *nheA*, *nheB*, *nheC*, *hblA*, *hblB*, *hblC*, *hblD* y *entFM*]. En el moviloma bacteriano, compuesto por 4 plásmidos denominados pBTm401a (8,307 pb), pBTm401b (9,934 pb), pBTm401c (69,561 pb) y pBTm401d (19,094 pb) se identificaron secuencias homólogas a reguladores transduccionales [MarR y TetR/AcR], toxinas [Cry1 y zeta toxin], y péptidos antimicrobianos [*mersacidin family lantibiotics*].

En conclusión, en el genoma de *Bt* m401 se encontró una amplia variedad de genes involucrados en diferentes procesos biológicos, como reguladores transduccionales asociados a resistencia a antibióticos, toxinas y péptidos antimicrobianos con un potencial interesante para su empleo en aplicaciones biotecnológicas.

## EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO RADICULAR EN LA ETAPA DE IMPLANTACIÓN DE AGROPIRO ALARGADO INOCULADO CON UNA CEPA NATIVA Y OTRA RECOMENDADA DE *Azospirillum* spp.

Francisco Caldentey (1,2,3), Lina Lett (1), Gabriela Portela (1,2)\*

(1) Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Azul, Argentina, (2) Laboratorio Integrado de Microbiología Agrícola, Ambiente y Alimentos (LIMAyA), Azul, Argentina, (3) INTA Cuenca del Salado, Azul, Argentina.

\*gportela@azul.faa.unicen.edu.ar

Según reportes los índices de logro en la siembra de pasturas no superan el 30%, agravándose cuando se implantan pasturas en suelos llamados ganaderos (ej *Natracualf*) como los predominantes en la región de la cuenca del salado. Estos, presentan severas restricciones al crecimiento de las plantas como inundaciones frecuentes, salinidad y alcalinidad. El agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) es una especie forrajera con capacidad de desarrollarse en estos ambientes. Es de lento crecimiento inicial, sumado a las características ambientales mencionadas pone de manifiesto la necesidad de desarrollar prácticas que permitan lograr una mayor y más rápida implantación. En estos suelos, habitan numerosos microorganismos con capacidad de favorecer el desarrollo y crecimiento de las plantas, entre ellos se incluyen las Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (PGPR en inglés) como *Azospirillum* spp. El objetivo del trabajo fue evaluar el crecimiento de dos variedades de *T. ponticum* inoculados con un aislamiento nativo de *Azospirillum* sp. (Az33), obtenido de la rizosfera de agropiro creciendo en suelo *Natracualf*, y la cepa Az39 recomendada para la formulación de inoculantes comerciales.

El ensayo se realizó en condiciones controladas de temperatura (16,5°C), humedad (CC) y fotoperíodo (13h de luz) utilizando macetas de 1.3l (tres plántulas por maceta) con suelo representativo de la cuenca del salado previamente esterilizado, e inoculando las semillas con respectivas cepas creciendo en caldo NFb con  $1 \times 10^7$  ufc/ml. Se evaluaron dos rebrotes desde la siembra realizando el corte con tres hojas expandidas dejando un tercio de hoja como remanente. El primer corte se hizo a los 62 días desde la siembra y el segundo corte fue a los 76 días desde el corte anterior. Al finalizar se lavaron las raíces, se calculó su volumen como el volumen de agua desplazado sumergiendo las raíces en una probeta y se determinó el peso seco luego de 72h en estufa a 60°C. En este trabajo se analizará el efecto de *Azospirillum* sp. sobre el peso y volumen de las raíces.

Se analizó la interacción entre cepas de *Azospirillum* y variedades para volumen de raíces encontrándose efectos significativos solo para cepas ( $p=0,02$ ). El volumen promedio de raíces de las plantas inoculadas con la cepa Az39 ( $133.1\text{cm}^3$ ) fue significativamente mayor al testigo ( $81.2\text{cm}^3$ ) y no difirió estadísticamente de las plantas inoculadas con Az33 ( $87.5\text{cm}^3$ ). Las plantas inoculadas con Az33 no difirieron estadísticamente del testigo sin inocular. Respecto del peso de raíces sólo fue significativo el efecto de la variedad, la variedad 1 tuvo un peso seco promedio de 28.7g significativamente mayor al peso de la variedad 2 (14.0g).

Podemos decir que el uso de *Azospirillum* sp. nativos adaptados a condiciones de salinidad y alcalinidad, en un número equivalente a un inoculante comercial aumenta el volumen de raíces lo que podría actuar mejorando la implantación y desarrollo inicial de agropiro en suelos ganaderos.

**EVALUACIÓN DE INOCULANTES EN BASE A BACTERIAS PROMOTORAS DEL  
CRECIMIENTO VEGETAL, EN EL CULTIVO DE  
TOMATE (*Solanum lycopersicum*) BAJO CUBIERTA**

Virginia Martínez Alcántara (1), Daniela Boiardi (1), Rocío Medina (1) Pedro A. Balatti (1)\*  
(1) Cátedra de Microbiología Agrícola Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI) Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 119 La Plata 1900 Argentina  
\*pbalatti@gmail.com

El tomate (*Solanum lycopersicum*) ocupa en la Argentina unas 11,8 mil ha que rinden entre 100 a 200 tn/ha y producen 767 mil tn. Se destacan tres zonas de producción en invernaderos: NOA, NEA y Buenos Aires (principalmente en el cinturón hortícola de Buenos Aires y La Plata). Los bioinsumos, son una alternativa para reducir el uso de fertilizantes y/o pesticidas en el manejo del cultivo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del agregado de suspensiones bacterianas de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas sp.*, en el crecimiento y el rendimiento de las plantas de tomate.

El ensayo se condujo en invernáculo, en un establecimiento productivo de la localidad de La Plata, bajo riego y prácticas de manejo convencionales. En el momento del trasplante (T0) se inocularon las plantas por inmersión en las suspensiones bacterianas ( $1 \times 10^8$  cel./ml), que consistieron en los siguientes tratamientos: (1) Control sin inocular, (2) *P. fluorescens*, (3) *G. diazotrophicus*, (4) *B. amyloliquefaciens*, (5) *B. subtilis*, (6) *P. fluorescens* y *B. amyloliquefaciens*, (7) mezcla de *P. fluorescens* y *B. subtilis*, (8) mezcla de *G. diazotrophicus* y *B. amyloliquefaciens*, (9) mezcla de *G. diazotrophicus* y *B. subtilis*, (10) mezcla de *P. fluorescens* y *G. diazotrophicus* y, (11) *Pseudomonas sp.* Se evaluaron los parámetros de crecimiento grosor de tallo y altura de planta, a los 23 (T1), 28 (T2), 44 (T3), 50 (T4) y 58 (T5) días de la inoculación. En el estado reproductivo (T6), se evaluó el rendimiento (número y peso de frutos) de la 1ª y 2ª corona. Se realizó un ANOVA y las medias se compararon usando el test LSD Fisher ( $p > 0,05$ ) (InfoStat versión 2015).

En lo que hace a la altura de las plantas los tratamientos 9, 5, 3, 10, 8, 6 y 4 mostraron solo en la primera determinación a los 5 días del trasplante, diferencias que no fueron consistentes a lo largo del ensayo. Solo el tratamiento con *Pseudomonas sp.* en T5 mostró una altura mayor. El diámetro de tallo en el tiempo T1 fue mayor en las plantas del tratamiento 7 y 6 y en el resto de las determinaciones fue variable. En cuanto al rendimiento no se observaron diferencias significativas en el número de frutos, pero el tratamiento con *B. amiloliquefaciens* y *P. fluorescens* generó la mayor biomasa de frutos, mientras que las plantas inoculadas con *P. fluorescens* presentaron los frutos de mayor tamaño.

**NODULACIÓN Y RENDIMIENTO DE PLANTAS DE SOJA INOCULADAS CON LAS CEPAS  
*Bradyrhizobium japonicum* E163 CON SENESCENCIA DEMORADA Y  
E366 CON ALTA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE NÓDULOS**

Virginia Martínez Alcántara (1), Laura Balagué (1), Matías Marchesotti (1), Adriana Balda (1),  
Rodolfo Bezus (2), Pedro A. Balatti (1)\*

(1) Cátedra de Microbiología Agrícola Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI) (2) Cátedra de Introducción al Mejoramiento Genético. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. Argentina

\*pbalatti@gmail.com

Las estirpes *Bradyrhizobium japonicum* E163 con actividad de ACC deaminasa y senescencia demorada de los nódulos y E366 con una capacidad de nodulación superior a *B. japonicum* E109 fueron identificadas en estudios previos a partir de una colección de rizobios provenientes de plantas de soja en suelos de la provincia de Buenos Aires.

El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento simbiótico de *B. japonicum* E163 y E366, en dos localidades de la provincia de Buenos Aires. Un ensayo se realizó en La Plata, se sembró a mano y se manejó con prácticas convencionales. El otro, se realizó en 25 de Mayo en sistema de siembra directa. Se realizaron cinco tratamientos: control (no inoculado), soja inoculada con E109, soja inoculada con E163, soja inoculada con E366 y soja no inoculada fertilizada con P (25 de Mayo) y Urea. A los 45 días de la siembra se evaluó el número de nódulos/planta y en R8 se determinó el rendimiento (kilos de grano /hectárea). Los datos se analizaron utilizando el análisis de varianza (ANOVA) seguido del test de Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando el programa InfoStat versión 2015.

La nodulación de las plantas control sin inocular en los dos sitios demostró la presencia de rizobios naturalizados. Aun así, en el ensayo en La Plata, la inoculación resultó en un aumento en el número de nódulos de las plantas de soja, independientemente de la cepa utilizada y E163 produjo mayor número de nódulos totales. En el ensayo en 25 de Mayo, E109 indujo la formación de un mayor número de nódulos en las plantas, seguido por las estirpes E163 y E366. En cuanto al rendimiento, en ambos ensayos no se observaron diferencias significativas si bien se observó una tendencia al aumento del rendimiento en las plantas inoculadas con la cepa E109 (4.472,63 kg. ha<sup>-1</sup>) y la cepa E163 (4.463,13 kg. ha<sup>-1</sup>) respecto de E366 (4152,88 Kg.Ha<sup>-1</sup>), en el ensayo 25 de Mayo. La fertilización solo en el ensayo realizado en La Plata provocó aumentos de rendimiento similares a los que se obtuvo con la inoculación, sugiriendo que el suelo de 25 de mayo probablemente demanda una mayor fertilización para obtener el potencial de rendimiento del cultivar de soja. El aislado E163 indujo una mayor cantidad de nódulos que E366 y mostró una capacidad similar a la de E109 para promover el rendimiento del cultivo.

En síntesis, en suelos con poblaciones de rizobios establecidas, la inoculación con las estirpes evaluadas resultó en una mayor nodulación aunque esto no se tradujo en diferencias significativas en los rendimientos en el ensayo 25 de Mayo. En un futuro habría que explorar si E163 presenta un mejor comportamiento simbiótico que E109 en suelos con distintos niveles de base de poblaciones de rizobios naturalizadas.

## ESTUDIO DE RESPUESTA DE DEFENSA EN PLANTAS DE PETUNIA INOCULADAS CON *Azospirillum brasilense*

Lucía M. Toffoli (1)\*, Sebastián Moschen (2), Norma N. Medrano (2),  
Gustavo Martínez-Zamora (3), Sergio M. Salazar (2,4).

(1) EEA Salta, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Salta, Argentina. (2) EEA Famaillá, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Famaillá, Argentina. (3) Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO) CONICET-UNT, e Instituto de Química Biológica “Dr. Bernabé Bloj”, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, UNT, San Miguel de Tucumán, Argentina. (4) Facultad de Agronomía y Zootecnia, UNT, San Miguel de Tucumán, Argentina

\*toffoli.lucia@inta.gob.ar

En la actualidad, existe la necesidad de buscar distintas estrategias para proteger las plantas contra diversos estreses bióticos sin comprometer al medio ambiente ni a la salud humana. Entre ellas, se encuentra el uso de agentes de control biológico como las bacterias promotoras del crecimiento vegetal como *Azospirillum brasilense*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la activación de una respuesta de defensa en plantas de petunia, mediada por *A. brasilense*, por un lado, analizando la inducción de resistencia frente al hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* y, por otro lado, a través del estudio de expresión génica luego de la inducción bacteriana.

Las inoculaciones bacterianas se llevaron a cabo por inmersión radicular durante 30 minutos, utilizando una suspensión bacteriana de  $10^6$  UFC/ml de las cepas 2A1, 2A2 y 2E1, previamente aisladas de raíces de plantas de petunia. En los ensayos fitopatológicos, transcurridos 4, 7 y 14 días de la inducción bacteriana, se llevó a cabo la infección fúngica colocando una gota de suspensión de esporas ( $5 \times 10^4$  esporas/ml) de *B. cinera* sobre el haz de la hoja. La evaluación de síntomas se realizó a las 48, 72 y 96 horas post infección (hpi), midiendo el área de lesión. Para el estudio de expresión de genes, se tomó muestra de hojas a las 48 hs postinoculación y se analizó la expresión de 5 genes marcadores de la respuesta de defensa: *wrky53*, *wrky70*, *pr1*, *erf5* y *pdf 1.2*.

Los resultados arrojados del ensayo fitopatológico mostraron un retraso en el avance de la enfermedad en plantas previamente inoculadas con las diferentes cepas bacterianas, al compararlas con plantas sin previa inoculación. De los genes evaluados, *wrky53*, *wrky70* presentaron mayores niveles de expresión en plantas inoculadas con las cepas 2A2 y 2E1, comparados con los niveles de expresión de plantas control no inoculadas. De igual manera, se encontró mayores niveles de expresión del gen *erf5*, en plantas inducidas con ambas cepas, encontrándose diferencias estadísticamente significativas a favor de plantas inoculadas con la cepa 2E1.

Estos resultados indicarían la existencia de una respuesta de defensa en plantas de petunia, inducida por las cepas de *Azospirillum brasilense*, por lo que podrían ser utilizadas como agentes de biocontrol contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

**MORFOFISIOLOGÍA DE PLANTAS DE *Fragaria vesca* INOCULADAS CON  
*Azospirillum brasilense* BAJO ESTRÉS SALINO**

Furio RN (1)\*, Toffoli LM (2), Coll Y (3), Díaz-Ricci JC (4), Salazar SM (1,5)

(1) EEA Famaillá, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Tucumán, Argentina. (2)

EEA Salta, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). (3) Universidad La Habana,

Cuba. (4) INSIBIO (CONICET-UNT), Tucumán, Argentina. (5) Fac. Agronomía y Zootecnia UNT,

Tucumán, Argentina.

\*ramirofurio@gmail.com

Algunas rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) pueden inducir protección contra diferentes tipos de estreses en las plantas. *Azospirillum brasilense* es una de las PGPR que ya se utiliza de manera efectiva como inductor de resistencia ante estreses bióticos en numerosos cultivos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de *A. brasilense*, sobre el crecimiento y la actividad fotosintética de plantas de *Fragaria vesca* bajo condiciones de estrés salino. Las plantas de frutilla silvestre fueron inoculadas con las cepas 2A1 y REC3 y sometidas a estrés salino, mediante el riego con soluciones a concentraciones crecientes de NaCl (50, 100 y 150 mM).

Las plantas inoculadas exhibieron un mejor estado fisiológico y menor pérdida del índice de verdor en las concentraciones ensayadas. Las plantas inoculadas y sometidas a estrés salino con NaCl 50 y 150 mM presentaron mayor longitud de raíz, diámetro de corona, área foliar y peso seco de la parte aérea. Se pudo apreciar una mayor superficie radicular en plantas inoculadas en todas las concentraciones ensayadas. Por su parte, solo con NaCl 50 mM, se observó mayor peso seco de raíz y un mayor número de hojas en plantas inoculadas con respecto al testigo sin inocular. Finalmente, el tratamiento con 2A1 o REC3 dio lugar a un mayor contenido relativo de agua en los folíolos hasta concentraciones de 100 mM de NaCl.

El marcado efecto protector de ambas cepas *A. brasilense* en plantas de *F. vesca* expuestas a estrés salino, permitiría mitigar los efectos perjudiciales de dicho estrés, minimizando las pérdidas de productividad y rendimiento que este estrés ocasiona.

## LAS COMUNIDADES DE BACTERIAS ENDÓFITAS DE PLANTAS DE TRIGO MANEJADAS CON Y SIN HERBICIDAS

Juan Manuel Reparaz (1), Virginia Martínez-Alcántara (2),

Rocío Medina (1), Pedro Alberto Balatti (1,2)\*

(1) Centro de Investigación de Fitopatologías (CIDEFI), FCAyF, UNLP, CICBA, La Plata, Argentina. (2) Cátedra de Microbiología Agrícola, FCAyF, UNLP, La Plata, Argentina.

\*pbalatti@gmail.com

Los microorganismos endófitos colonizan, desarrollan y viven en el apoplasto de los tejidos de las plantas. Allí bacterias de cuatro phyla (Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes) establecen interacciones positivas, neutras o negativas para las comunidades bacterianas y el crecimiento de las plantas. El estudio de estas interacciones y los factores que las regulan conduce al desarrollo de herramientas biológicas para la producción agrícola.

Por ello se planteó evaluar las comunidades bacterianas endófitas en las raíces, tallos, hojas y espigas de plantas de trigo (*Triticum aestivum*) testigos (no tratadas, T) y plantas tratadas (H) con una mezcla de dos herbicidas sistémicos dicamba (150cc/ha) + metsulfuron (6gr/ha). Aquí se presentan los resultados del análisis de los endófitos de raíz. A los 15 días de la aplicación se tomaron raíces y luego de lavarlas y esterilizarlas superficialmente con alcohol e hipoclorito de sodio, se maceraron en buffer fosfato pH7. Alícuotas de diluciones 1:10 se sembraron en medio agar nutritivo y se incubaron a 30°C en oscuridad. Las colonias desarrolladas luego de 48 h de incubación se caracterizaron por la forma, tamaño, tipo de borde, color, crecimiento y desarrollo de las colonias elasticidad, elevación y producción de exopolisacáridos. Estas características se codificaron en un sistema binario y se estimó el coeficiente de similitud Simple Matching, generando una matriz de similitud para la construcción del fenograma. El análisis de agrupamiento se realizó con el método de UPGMA. Los cambios en la estructura de la comunidad se evaluaron a través de los índices de diversidad alfa (Chao1, Shannon, Simpson).

Se obtuvieron 108 y 218 aislados en las raíces del trigo control y del tratado, respectivamente. El fenograma agrupó a los aislados en dos grupos (I y II) con un nivel de similitud de 0.72. El grupo I está conformado por 12 subgrupos (107 aislados del tratamiento T y 214 del H) y el grupo II por el subgrupo 13 (un aislado del tratamiento T y dos del H) y el subgrupo 14 (dos aislados del tratamiento H), a un coeficiente de 0.85. El número de aislados estimados en T y H fue similar y la abundancia y equidad de la comunidad endófitas en las plantas tratadas con herbicida fue mayor.

La aplicación de herbicidas sistémicos provocó cambios en la comunidad bacteriana endófitas de la raíz. Los grupos 12, 11 y 8 incluyen aislados susceptibles a los herbicidas, mientras que los aislados de los grupos 14, 6 y 4 fueron encontrados únicamente luego del tratamiento, que un aumento de la abundancia de los aislados de los grupos 1, 2, 3, 5, 10, 13. Los resultados preliminares sugieren que las comunidades de bacterias endófitas son complejas y podrían ser afectadas por la aplicación de herbicidas.

## BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN TRIGO (*Triticum* spp.) Y MAÍZ (*Zea mays*)

Juan Manuel Reparaz (1), Rocio Medina (1), Virginia Martínez-Alcántara (2), Giuliano Degrassi (3),  
Pedro Alberto Balatti (1,2)\*.

(1) Centro de Investigación de Fitopatologías (CIDEFI), FCAyF, UNLP, CICBA, La Plata,  
Argentina. (2) Cátedra de Microbiología Agrícola, FCAyF, UNLP, La Plata, Argentina. (3)  
International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Buenos Aires, Argentina.  
\*pbalatti@gmail.com

Las bacterias endófitas que forman parte del microbioma se encuentran en los espacios intercelulares de las plantas, en donde establecen diferentes interacciones entre ellas y con las plantas. Muchas promueven directa o indirectamente el crecimiento y desarrollo de las plantas y se conocen como PGPB.

El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar bacterias endófitas PGP de cebada (*Hordeum vulgare*), trigo (*Triticum aestivum*) y maíz (*Zea mays*). Se obtuvieron 153 aislados bacterianos, 64 de cebada, 47 de trigo y 42 de maíz que se evaluaron en su capacidad para solubilizar fósforo, producir auxinas (AIA) y sintetizar sideróforos, exopolisacáridos (EPS), lipasas y proteasas. La identificación se realizó en base a la secuencia del 16S rDNA. La primera letra del nombre del aislado hace referencia a la planta de origen (**C**ebada, **T**rigo, **M**aíz); la segunda al sitio (tallo, espiga, semilla, hoja, raíz) y el número se refiere al orden de identificación en el órgano. Entre las especies aisladas están *Pantoea agglomerans* (CE10), *Pseudomonas poae* (CT5), *Lelliottia amnigena* (CR1), *Pseudomonas zhaodongensis* (CR3), *Enterobacter ludwigii* (CR16), *Pseudomonas cichorii* (MH3), *Pseudomonas vranovensis* (MH5) y *Rhodococcus canchipurensis* (TT8). El 97,4% de los aislados presentó al menos una de las características fenotípicas evaluadas. El 58% producen AIA (89 cepas), el 48% (73 cepas) solubiliza fósforo, el 29% (44 cepas) produjeron cantidades importantes de EPS y el 28 % (43 cepas) sintetizaron sideróforos. El 39% (61 cepas) sintetizaron proteasas y el 53% (80 cepas) lipasas. Solo 6 aislados fueron positivos para 5 de los caracteres evaluados. En ensayos a campo, en parcelas distribuidas al azar con tres réplicas, se evaluaron trece aislados, *Pseudomonas* (CS3, CT8, CR3, CR21, CR27, MH8, TT5, TS3), *Curtobacterium* (CE11, CS5, TE15), *Citrobacter* (CR2) y *Bacillus* (TE9), con los que se inocularon semillas de Trigo y Maíz con suspensiones bacterianas de  $1 \times 10^8$  cel.ml<sup>-1</sup>.

El aislado TS3 se destacó por promover el crecimiento en los dos cultivos ensayados que rindieron entre 18 y 33% más. Otros dos aislados TE15 y TT5 provocaron aumentos en el crecimiento y rendimiento de las plantas. El primero en un 22% en trigo y 31% en maíz temprano, mientras que el segundo en un 15% y 17%, respectivamente.

Es claro que las bacterias juegan un papel clave en la fisiología de las plantas y en el funcionamiento de los agroecosistemas, y también que las PGPB endófitas son diversas y colonizan los diversos tejidos y órganos de las plantas. Las bacterias promovieron el crecimiento de trigo y maíz independientemente de su origen. No se encontró correlación entre el rendimiento y las actividades de promoción del crecimiento determinadas. Optimizar el uso de las interacciones cultivos-PGPR presenta un gran potencial para contribuir a prácticas agrícolas más sustentables, atendiendo a la protección de los recursos y a la seguridad y sanidad de los alimentos.

## ACTIVIDAD Y ABUNDANCIA DE HONGOS MICORRÍDICOS Y BACTERIAS EN SUELOS DEL ALTIPLANO JUJEÑO BAJO CULTIVO CON MANEJO SUSTENTABLE

Fernanda Covacevich (1,2), Darío C. Castro (3), Keren Hernández Guijarro (1)\*  
(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA EEA Balcarce, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA Abra Pampa, Jujuy, Argentina.  
\*hernandez.keren@inta.gob.ar

La Puna jujeña es un ambiente extremo a más de 3500 m sobre el nivel del mar con un clima adverso. Los suelos son arenosos, susceptibles a la erosión, con contenidos de materia orgánica (MO) inferiores al 1%, donde la producción agrícola sostenible es de vital importancia para la conservación de estos ecosistemas. En esta región son escasos los estudios sobre la actividad de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y las caracterizaciones de comunidades bacterianas edáficas asociadas a sistemas productivos de cultivos ancestrales.

El objetivo de este trabajo fue determinar el impacto de una producción agrícola sostenible sobre la colonización micorrícica (CM%) y la abundancia de bacterias totales en suelos con cultivos andinos en rotación, riego por goteo y fertilización química acompañada con la incorporación de guano compostado de llama. El estudio fue realizado en parcelas experimentales de la E.E.A. INTA Abra Pampa durante 2020 y 2021 y se analizaron muestras de suelo provenientes de: un suelo control o prístino, dos suelos agrícolas con rotaciones papa 2020/quinoa 2021 (A1) y quinoa 2020/triticale 2021 (A2) y un suelo debajo del guano compostado sin mezclar (GC). El contenido de MO de los suelos agrícolas enmendados fue cuatro veces superior respecto al control. A partir de las raíces presentes en las muestras frescas se determinó la CM% y la formación de arbusculos y vesículas por los HMA nativos.

En general, la mayor CM% se registró en raíces del suelo control y la menor en el suelo A1 durante los dos años evaluados. La presencia de vesículas se observó particularmente en el control y en GC de ambos años. En el año 2020, la mayor CM% se registró en raíces del control y del GC, mientras que la CM% fue similar en A1 y A2. En el año 2021, las diferencias entre condiciones fueron mayores, registrándose la mayor colonización en A2 y el control, seguidos por raíces del suelo GC; mientras la menor CM% se observó en A1 con abundante cantidad de hifas externas y presencia baja o nula de arbusculos y vesículas. Además, se determinó la abundancia de bacterias a través de la cuantificación del gen ARN ribosomal 16S de Eubacterias mediante PCR cuantitativa en tiempo real (número de copias/ $\mu\text{g}$  ADN). La mayor abundancia se encontró en la rotación con quinoa: en A2 año 2020 y en A1 año 2021, seguida del suelo control. En 2020 la menor abundancia se registró en A1, mientras que en 2021 fue en GC. Se evidenció variación dinámica de las poblaciones microbianas evaluadas en función del manejo.

Profundizar los estudios sobre las comunidades microbianas en suelos agrícolas permitirá establecer las estrategias de manejo que contribuyan a favorecer la sostenibilidad del sistema productivo y del ecosistema de la Puna Jujeña.

**VARIANTES HIPERPRODUCTORAS DE PROTEÍNAS INSECTICIDAS DE  
*Bacillus thuringiensis* OBTENIDAS POR MUTAGÉNESIS INDUCIDA AUMENTAN  
TOXICIDAD PARA *Alphitobius diaperinus***

Melisa Pérez (1,2)\*, Marcelo Berretta (1,3), Graciela Benintende (1), Diego Sauka (1,3).

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Buenos Aires, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

\* perez.melisa@inta.gob.ar

La producción avícola puede verse afectada por *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Su control se basa principalmente en el empleo de productos químicos. La utilización de una herramienta de control ambientalmente sostenible podría contemplar el uso de bioinsecticidas que contengan *Bacillus thuringiensis* como ingrediente activo. La cepa nativa INTA Mo4-4, productora mayoritariamente de la proteína insecticida Cry3 durante la esporulación, presenta alta virulencia en larvas de *A. diaperinus*. A efectos de reducir costos de producción a nivel industrial, es necesario maximizar la obtención de biomasa activa (esporas y cristales proteicos). Esto podría lograrse mediante la selección de mutantes que sinteticen mayores proporciones de proteínas insecticidas obtenidas a través de mutagénesis inducida al azar. Recientemente obtuvimos tres variantes hiperproductoras de INTA Mo4-4 (28, 30 y 113) por exposición a etilmetanosulfonato. Un análisis microscópico evidenció a 30 como una variante claramente oligosporogénica. El objetivo de este trabajo fue cuantificar la actividad tóxica de las tres variantes hiperproductoras de proteínas insecticidas y compararlas con la de INTA Mo4-4. Asimismo se pretendió especular acerca de alguna posible razón responsable de la hiperproducción.

La virulencia de las variantes y de la cepa silvestre en *A. diaperinus* se determinó a través de la estimación de la concentración letal media ( $Cl_{50}$ ) en bioensayos de incorporación en dieta. Se emplearon seis concentraciones de cada muestra. Los valores obtenidos de  $Cl_{50}$  resultaron del promedio de tres bioensayos realizados en días diferentes y estimados mediante análisis Probit. Además se realizaron recuentos de esporas viables en placa a partir de la biomasa de cada variante y de la cepa silvestre.

Los resultados mostraron un aumento significativo de la actividad tóxica de las variantes hiperproductoras en comparación con INTA Mo4-4 ( $Cl_{50} = 200,7 \pm 32,5$   $\mu$ g de biomasa/ml de dieta), representando mejoramientos entre un 53 y 57%. Los recuentos de esporas de las variantes 28 y 113 fueron similares entre sí y alrededor de 3,5 veces menores que el de INTA Mo4-4 ( $5 \times 10^7$  UFC/mg de biomasa). En cambio, el recuento de la variante 30 resultó un orden de magnitud menor que el de las otras variantes y la cepa silvestre. Considerando estos resultados y observaciones microscópicas previas, la hiperproducción se asoció a variantes oligosporogénicas. Este tipo de variantes se caracterizan por cultivos donde algunas células hijas pueden esporular y otras no, haciendo que la fase estacionaria se prolongue en estas últimas, y se produzca mayor cantidad de proteínas insecticidas. Esto se evidenció claramente en la variante 30, y en menor medida en la 28 y 113, donde los recuentos de esporas fueron menores que en la cepa silvestre. El uso de este tipo de variantes podría mejorar el rendimiento de la producción de biomasa activa de INTA Mo4-4 para el desarrollo de un bioinsecticida.

## ***Azospirillum brasilense* Az39 Y Zinc COMO ESTRATEGIA PARA INCREMENTAR LA PRODUCTIVIDAD DEL MAÍZ**

Soledad Marianel Martin (1,2), Paula Gabriela Cardozo (1,2), María Albana Di Palma (1,2)\*, Cecilia Cerliani (1,3), R Naville (3), M Farías (3), Gabriel Espósito (1,3), Sonia Fischer (1,2), Susana A Suárez (2,4), Tania Taurián (1,2), Claudia Noemi Travaglia(1,2)

(1) CONICET-UNRC, Instituto de Investigaciones Agrobiotecnológicas (INIAB), Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (2) UNRC, Fac. de Cs. Exactas, Fco.-Qcas. y Nat., Dpto. de Ciencias Naturales, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (3) UNRC, Fac. de Agronomía y Veterinaria, Cátedra de Cereales, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. (4) CONICET-UNRC, Instituto de Sustentabilidad de Sistemas Productivos (ISSPro), Ruta 36 Km 601-X5800- Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

\*albanadipalma@gmail.com

En Argentina el cultivo de maíz representa unos de los cereales más importantes. El aumento en la productividad agrícola y la baja reposición nutricional realizada en los últimos años ha generado un balance negativo de nutrientes en los suelos de nuestro país. En el sur de Córdoba uno de los micronutrientes que se encuentra en estado crítico es el Zinc (Zn), siendo indispensable en los estadios tempranos del crecimiento del maíz. Se ha demostrado una correlación positiva entre el rendimiento y su concentración en la hoja. Una propuesta interesante a este déficit nutricional sería pensar en una producción agrícola complementaria, mediante la utilización de un biofertilizante a base de Zn y de bacterias que promueven el crecimiento vegetal, como la cepa nativa comercial *Azospirillum brasilense* Az39.

Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la supervivencia de *A. brasilense* Az39 frente al micronutriente Zinc y estudiar los efectos de su combinación sobre el crecimiento temprano y el rendimiento del cultivo de maíz. Para ello se realizaron ensayos *in Vitro* de Az39 en medio mínimo con distintas fuentes de Zn, como ZnO y ZnSO<sub>4</sub>, en concentraciones desde 0,03 hasta 1,2 g/L y de 1 a 2 g/L, respectivamente. Además, en semillas de maíz tratadas con Zn, con y sin la inoculación de Az39, se evaluó el comportamiento germinativo y el crecimiento temprano. En ensayos a campo, durante la campaña 2020/21, se evaluaron componentes del rendimiento en cultivo de maíz con diferentes combinaciones de fertilización química, en presencia o ausencia de Zn y/o de Az39. Los resultados demostraron que Az39 fue capaz de sobrevivir a las dosis de 0,03 y 0,6 g/L de ZnO, con recuentos del orden similares al control, mientras que con ZnSO<sub>4</sub> no se observó crecimiento bacteriano. El porcentaje de germinación tuvo valores cercanos al 100 % a las 144h en todos los tratamientos. Asimismo, la inoculación con Az39 aumentó significativamente la longitud de la radícula respecto al resto de los tratamientos, sin variación en las mediciones de parte aérea. A campo se observó un efecto nutricional en los componentes del rendimiento analizados y la inoculación incrementó el peso de espigas con el empleo de fertilizantes arrancadores.

El conocimiento generado en este trabajo contribuye a estrategias bio-inspiradas en los efectos de microorganismos nativos y fertilizantes químicos en concentraciones adecuadas, para lograr no sólo beneficios económicos sino también ambientales.

## INFLUENCIA DEL CLIMA EN LA DIVERSIDAD BACTERIANA DEL SUELO DE UN VIÑEDO EN UNA REGIÓN VITIVINÍCOLA NO-TRADICIONAL EN ARGENTINA

Gabriel A Rivas (1,2)\*, Andrea Guillade (1), Liliana Semorile (1), Lucrecia Delfederico (1)

(1) Universidad Nacional de Quilmes (UNQ), Bernal, Argentina.

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*rivasalejandro227@hotmail.com

Argentina es el quinto productor mundial de vino, con un área de importancia emergente en el suroeste de la provincia de Buenos Aires, donde las condiciones climáticas presentan ciertos desafíos. El objetivo de este trabajo fue estudiar las variaciones en la diversidad bacteriana del suelo, a lo largo de tres vendimias consecutivas, en un viñedo ubicado en dicha región emergente, y cómo las condiciones climáticas afectaron dicha diversidad.

Para realizar este estudio, se obtuvieron muestras de suelo de la bodega Saldungaray (SO Prov. Buenos Aires, Argentina), en periodos previos a la vendimia, para los años 2017, 2018 y 2019. Las muestras se procesaron y se realizó la extracción de DNA genómico total mediante *FastDNA Spin Kit for Soil* (Biomedicals, USA). Al DNA obtenido se lo sometió a secuenciación masiva de un fragmento del gen de *16S rRNA* (Macrogen, Korea), mediante tecnologías de alto rendimiento (Illumina, Miseq). Utilizando software bioinformático (QIIME2), se depuraron las secuencias obtenidas y se realizaron análisis taxonómicos. Complementariamente, se realizaron análisis fisicoquímicos y granulométricos del suelo, y se recabaron y analizaron datos climáticos obtenidos a partir del Sistema de Información y Gestión Agrometeorológica, Instituto Nacional Tecnológico Argentino (INTA).

Durante el periodo estudiado se registraron dos eventos climáticos severos, una sequía prolongada que se extendió por dos períodos vegetativos y una helada primaveral fuera de temporada en 2017. Encontramos que la diversidad bacteriana reaccionó a estos eventos climáticos, observándose un cambio en los taxones exclusivos del suelo a lo largo del tiempo, mientras que un núcleo de microorganismos pertenecientes a diferentes filos se conservó durante las vendimias estudiadas. Se detectó una tendencia al enriquecimiento en *Actinobacteria*, especialmente *Actinomycetales*. Estos microorganismos se han descripto como marcadores de adaptación a sequía, debido a ciertas adaptaciones al stress (bajos requerimientos nutricionales, afinidad por moléculas complejas, formación de endosporas, etc.).

Consideramos que los resultados alcanzados contribuyen a una mejor comprensión del impacto del clima en la microbiota del suelo, y pueden proporcionar conocimientos valiosos que se traduzcan en avances significativos en la mejora de la producción vitivinícola frente a cambios climáticos.

**EFFECTO DE HERBICIDAS A BASE DE GLIFOSATO SOBRE LA SEVERIDAD DE LA PODREDUMBRE DE LA MAZORCA DE MAIZ PRODUCIDA POR *Aspergillus flavus***

Benito, N\*, Magnoli, K, Aluffi, ME, Carranza, CS, Magnoli, CE, Barberis, CL  
IMICO, CONICET. Departamento de Microbiología e Inmunología Facultad de Ciencias Exactas,  
Físico- Químico y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nacional 36 Km 601, Río  
Cuarto, Córdoba, Argentina.  
nbenito@exa.unrc.edu.ar

Argentina es uno de los principales países exportadores de maíz y actualmente 160.000 toneladas de glifosato se aplican anualmente para controlar malezas. Estudios recientes han demostrado que la aplicación de glifosato influye sobre la biodiversidad microbiana, aunque no se conoce el impacto de este sobre la microbiota fitopatógica del suelo y su contaminación en maíz. El objetivo de este trabajo fue evaluar a campo el efecto de dos herbicidas a base de glifosato (HBG) sobre la severidad de la podredumbre de la mazorca de maíz causada por *A. flavus*. El híbrido DEKALB 7210 fue sembrado.

Los ensayos se realizaron durante la temporada de siembra temprana y tardía de maíz. Se sembraron dos parcelas (900 m<sup>2</sup>) a una densidad de 100.000 plantas/ha. El diseño experimental consistió en un diseño en bloques completamente aleatorizado con 4 repeticiones y seis tratamientos por bloque. Se inoculó la cepa *A. flavus* AFM16 aislada de maíz. Las aplicaciones se realizaron con un formulado de alta pureza Roundup® Control MAX (72% de principio activo), y un formulado de menor pureza Gleba® Glifoglex (48% de principio activo). Las parcelas fueron pulverizadas de la siguiente manera, **1:** Control sin glifosato y sin la cepa fúngica. **2:** Tratamiento con 2 kilos/ha de Roundup® y sin la cepa fúngica. **3:** Tratamiento con 2 kilos/ha de Roundup® e inoculado con la cepa. **4:** Tratamiento con 3 litros/ha de Gleba® sin la cepa fúngica. **5:** Tratamiento con 3 litros/ha de Gleba® e inoculado. **6:** Tratamiento con la cepa *A. flavus* AFM16 y sin glifosato. El rendimiento en kg/ha se estimó a partir de la cosecha de todas las espigas desarrolladas en 1,92 metros lineales de cada tratamiento. La severidad se determinó utilizando una escala visual de síntomas. La incidencia de granos infectados se determinó según el método de siembra directa en medio Agar Dicloran Glicerol al 18%. Existió una amplia diferencia estadística entre los rendimientos, siendo el mayor en el control en ambas fechas de siembra. Si bien los tratamientos 3 y 5, inoculados y pulverizados con Control Max y Glifoglex respectivamente, son los que presentaron los menores rendimientos, no mostraron diferencias significativas con respecto al tratamiento 6 (Inoculado con la cepa y sin glifosato). De las mazorcas cosechadas, sólo el 10% presentaron síntomas típicos de infección por *Aspergillus*; con bajos índices de severidad. En relación a la incidencia, en la siembra temprana, existieron diferencias significativas entre los tratamientos 1, 2 y 4 (no inoculados) con respecto a 3, 5 y 6 (inoculados) con valores cercanos al 100% de infección, a diferencia del tardío en el cual todos los tratamientos se comportaron de manera similar, sin diferencias significativas entre ellos y con porcentajes alrededor de 95%.

Este estudio mostró que la aplicación de HBG, bajo las condiciones evaluadas, no produjo un efecto en el rendimiento, la severidad y el porcentaje de infección de *A. flavus* causante de podredumbre en el híbrido en estudio.

**SCREENING DE ENZIMAS EXTRACELULARES DE TRES AISLAMIENTOS DE  
*Purpureocillium lilacinum* CON POTENCIAL PATOGENICIDAD  
SOBRE HONGOS FITOPATÓGENOS**

Cecilia Gortari (1,2), Roque Hours (1,3), Andrea Astoreca (1,3)\*

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP-CONICET, La Plata, Buenos Aires, Argentina. (2) Profesional Principal Comisión Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC-PBA), La Plata, Buenos Aires, Argentina. (3) Investigadores pertenecientes al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

\* astoreca@biotec.quimica.unlp.edu.ar

*Purpureocillium lilacinum* es un hongo de suelo con actividad antagónica reconocida sobre nemátodos, insectos y otros hongos. Esta característica ha hecho que sea uno de los hongos más estudiados como agente de control biológico. En el marco del estudio de los mecanismos de patogenicidad involucrados en la interacción entre *P. lilacinum* y fitopatógenos pertenecientes al género *Alternaria* el objetivo de este trabajo fue realizar un screening en medio sólido de las principales enzimas extracelulares consideradas como factores de patogenicidad de *P. lilacinum*.

Se utilizaron hongos aislados de suelo de la provincia de Buenos Aires identificados molecularmente como *Purpureocillium lilacinum* (LPSC 876, Ls y Pv). Los aislamientos fueron cultivados en medio sólido utilizando un medio mínimo suplementado con diferentes sustratos inductores para detectar actividad polisacrolítica (quitina, carboximetilcelulosa y almidón), proteolítica (leche descremada) y lipolítica (Tween 20, tween 80, aceite de oliva y yema de huevo). La detección de la hidrólisis de quitina y carboximetilcelulosa se realizó mediante el viraje del indicador de pH púrpura de bromocresol y el revelado con rojo Congo, respectivamente. La presencia de amilasas y proteasas se evidenció con la formación de un halo de transparencia. La actividad lipolítica se detectó por la presencia de un halo de opacidad debido a la precipitación de sales cálcicas presentes en el medio (Tween) y por la formación de sales insolubles de cobre después de inundar las placas con una solución 0,1 molar de  $\text{CuCl}_2$  (aceite de oliva). La actividad fosfolipasa se puso de manifiesto por una zona de opacidad en el agar con yema de huevo. Todas las placas fueron inoculadas (por triplicado) e incubadas a  $30 \pm 0,5^\circ\text{C}$  en oscuridad. Las actividades enzimáticas se determinaron de acuerdo a la degradación del sustrato correspondiente en colonias de un diámetro promedio de  $5 \pm 1\text{cm}$ , independientemente del tiempo de incubación en los casos en que el revelado implicaba la destrucción de la colonia. En los demás el cultivo se mantuvo hasta alcanzar el borde de la placa. Los cambios producidos en los medios de cultivo por la hidrólisis fueron observados a simple vista y confirmados luego con el uso de microscopio estereoscópico. La actividad enzimática fue expresada como (1-C/H) siendo C el diámetro de la colonia y H el halo de hidrólisis siguiendo la metodología descrita por Olivares-Bernabeu y Lopez-LLorca (2002).

De acuerdo a las observaciones realizadas a partir de los cultivos y los diferentes medios utilizados bajo las condiciones ensayadas, se puede afirmar que los tres aislamientos de *P. lilacinum* fueron capaces de hidrolizar todos los sustratos utilizados. Independientemente de las variaciones entre los aislamientos los valores más altos de actividad correspondieron a la hidrólisis de la quitina y los más bajos para la actividad amilasa. Estos resultados sustentan el potencial antagónico de *P. lilacinum* frente a otros hongos.

## ANÁLISIS TEMPORAL DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS Y DEL ENSAMBLE DE NEMATODOS EN LA SUCESIÓN DE CULTIVOS DE COBERTURA-SOJA

Claudia Azpilicueta (1); Jhovana Escobar Ortega (2); Inés Eugenia García de Salamone (3)\*  
(1) Laboratorio LASAF, Ministerio de Producción, Neuquén, Argentina. (2) CONICET, Argentina.  
*Actualmente:* Instituto Pairumani, Cochabamba, Bolivia. (3) Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.  
\*igarcia@agro.uba.ar

Cuando la soja es el único cultivo de renta, los cultivos de cobertura o de servicios permiten mejorar las propiedades fisicoquímicas edáficas, pero como generalmente, se utiliza glifosato para interrumpir su crecimiento es relevante analizar las comunidades microbianas y de nematodos en la rizósfera. Se condujo a campo un ensayo factorial en parcelas divididas. Se extrajeron en primavera, muestras rizosféricas de los cultivos avena y centeno, cuyo crecimiento había sido interrumpido 45 días antes, mediante la aplicación de 5 L/ha de glifosato y sobre las mismas parcelas, en el otoño, a la cosecha del siguiente cultivo soja.

Recuentos de bacterias, actinobacterias, fijadores de nitrógeno microaerófilos (FNM) no mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre avena y centeno ni entre los momentos de muestreo, pero los hongos, y los microorganismos degradadores de glifosato sí lo hicieron. Los perfiles de utilización de fuentes de carbono de las comunidades microbianas rizosféricas mostraron diferencias entre primavera y otoño y entre ambos cultivos. El análisis multivariado de componentes principales (CP) explicó 85% de la variabilidad total. Putrescina, Tween 20, aminoácidos y ácidos carboxílicos explican los agrupamientos del CP1 y los ácidos itacónico, orgánicos y carboxílicos para el CP2 por los mayores valores del coeficiente de correlación de Pearson. Se identificaron 27 taxones entre géneros y familias de nematodos. La mayor frecuencia de ocurrencia (93,7%) fue de *Acrobeles*, *Aphelenchus* y Rhabditidae. El ensamble estuvo dominado por bacteriófagos (Ba) (42-62%). La población de Ba + Fungívoros (Fu) aumentó 1,3 veces en otoño ( $p = 0,018$ ), lo que indicaría que el recurso provisto por la soja fue favorable para los microbívoros. La red trófica del suelo se mantuvo enriquecida y estructurada. Rhabditidae fue mayor en otoño que en primavera ( $p = 0,01$ ) en contraste con la dinámica de Panagrolaimidae ( $p = 0,01$ ). El índice de estructura disminuyó en otoño ( $p = 0,01$ ), señalado por la reducción de omnívoros-predadores (OP) ( $p < 0,01$ ), lo que podría comprometer la supresión de plagas. Los fitófagos obligados (FO) fueron dos veces más abundantes en la secuencia avena-soja ( $p = 0,01$ ), siendo buenos hospederos de FO. El análisis multivariado de coordenadas principales combinando comunidades microbianas y nematodos para la interacción entre ambos cultivos y los momentos de muestreo indicó que las diferencias estacionales afectaron profundamente la respuesta de nematodos y comunidades microbianas. En primavera, el centeno se vinculó con hongos y OP y la avena con nematodos fitófagos facultativos y degradadores de glifosato. En otoño, Ba y Actinobacterias se asocian con centeno mientras que Fu, FO y FNM se vinculan con avena.

Estos resultados describen que las comunidades microbianas y el ensamble de nematodos varían diferencialmente en las rizósferas de avena y centeno en interacción con el momento de muestreo.

## PRODUCCIÓN DE MUNDTICINA KS EN RESIDUOS LÁCTEOS Y CERVECEROS DE UN AISLAMIENTO PROVENIENTE DE PEPINO DE MAR (*Hemidoema spectabilis*)

Franco M. Sosa (1,2)\*, Romina B. Parada (1,2), Emilio R. Marguet (1), Marisol Vallejo (1)  
(1) Laboratorio de Biotecnología Bacteriana. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Trelew, Chubut, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) de la República Argentina.

\*franco.m.sosa94@gmail.com

La industria alimentaria está en constante crecimiento, generando así un aumento en la producción de residuos. El constante crecimiento de la industria alimentaria ha generado un aumento de la producción de residuos. En Argentina, se observa un aumento de residuos lácteos y cerveceros, los cuales, según el pensamiento actual de la economía circular, podrían ser considerados subproductos, otorgándoles un mayor valor agregado mediante fermentaciones con bacterias ácido lácticas (BAL). Las BAL han sido utilizadas para la conservación o transformación de alimentos desde la antigüedad. Sin embargo, durante los últimos años un profundo estudio de su metabolismo ha permitido ampliar su utilización para la producción de compuestos bioactivos aplicables a diferentes campos biotecnológicos. El medio marino ha tomado importancia en el aislamiento de BAL, por presentar rasgos distintivos como la producción de metabolitos con actividad antimicrobiana que exhiben mecanismos inespecíficos o específicos; como así también el desarrollo de estos microorganismos en un ambiente hostil. El objetivo de este trabajo fue el aislamiento de una cepa proveniente de *Hemidoema spectabilis*, su caracterización fenotípica, producción de péptidos antimicrobianos y su caracterización físico-química en medios comerciales y residuos agroindustriales. Además, se evaluó la presencia de genes específicos para la codificación de bacteriocinas.

La cepa se identificó a nivel de especie de manera fenotípica mediante pruebas bioquímicas y fermentación de azúcares, corroborando genotípicamente mediante la amplificación del gen ARNr 16S, identificándose como *Enterococcus mundtii*. La actividad inhibitoria del principio activo resultó estable a los tratamientos térmicos y conservación en frío, es de naturaleza proteica y sin la presencia de azúcares en su estructura. Mediante amplificación genética con cebadores específicos se determinó la presencia del gen estructural para mundticina KS. Por otra parte, se determinó la curva de crecimiento y producción de bacteriocinas, realizando un cultivo durante 24 h en medio MRS. Por último, se evaluó el crecimiento y producción de bacteriocinas en residuos agroindustriales, utilizando suero lácteo (SL) y Hot Trub (HT), solos o en combinaciones. Se determinó el título de actividad inhibitoria utilizando como cepa blanco a *Listeria innocua* Tw67. El máximo crecimiento de la cepa se obtuvo a las 8 h, al igual que la máxima actividad inhibitoria (163.840 UA/ml). En presencia de residuos agroindustriales se obtuvieron las siguientes unidades arbitrarias: 640 UA/ml para HT; 160 UA/ml para SL; 1280 UA/ml para 1SL:1HT; y 10.240 UA/ml para las combinaciones 1SL:2HT y 2SL:1HT.

Los resultados obtenidos reflejan el posible aprovechamiento de los residuos agroindustriales como medios de cultivo iniciadores de bajo costo, para el crecimiento y producción de péptidos antimicrobianos.

## TOLERANCIA A METALES PESADOS EN CEPAS DE *Salmonella enterica* AISLADAS DE AGUA DE RÍO

Talia Martínez (1), Marisol Castañeda (1), Maribel Jiménez (1)\*

(1) Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Microbiológico, Facultad de Ciencias Químico  
Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México

\*mjimeneze@uas.edu.mx

Los ambientes acuáticos son comúnmente contaminados con la presencia de metales, siendo las principales fuentes de contaminación las descargas industriales, así como las actividades agrícolas. Aunque algunos iones metálicos son indispensables para las células, la presencia de metales incluso en concentraciones bajas puede ser perjudicial. Algunas bacterias son capaces de sobrevivir en presencia de metales pesados como consecuencia de la adaptación a estos ambientes a través de mecanismos moleculares, tanto de origen antrópico como natural, como ocurre con la resistencia a antibióticos.

Se evaluó la tolerancia a Cu, As y Hg de cepas de *Salmonella enterica* aislada de agua de río (S36, S60, S61, S71, S94, S110 y S111). Para la cuantificación de bacterias tolerantes a metales, se ajustó la turbidez de los crecimientos bacterianos a una concentración de  $1 \times 10^8$  células/mL usando la escala 0.5 de McFarland. Se inoculó una concentración bacteriana de  $1 \times 10^5$  células/mL en caldo nutritivo suplementado con los metales pesados a las concentraciones de 0.04, 0.08 y 0.16  $\mu\text{g/mL}$   $\text{CuSO}_4$ ; 25, 50 y 100  $\mu\text{g/mL}$   $\text{NaAsO}_2$ ; 0.625, 0.938 y 1.25  $\mu\text{g/mL}$   $\text{HgCl}_2$ , se agitó con vortex y se incubó por 24 horas a 37 °C. También se inoculó caldo nutritivo sin metal como control a las mismas condiciones experimentales. Para determinar los porcentajes de UFC/mL tolerantes a Cu, As y Hg se compararon los resultados obtenidos con el medio sin metal usando la fórmula: número de UFC/mL en agar nutritivo suplementado con metal  $\times$  100/número de UFC/mL en agar nutritivo. Se llevó a cabo un análisis de varianza mediante una comparación de los valores medios de UFC/mL de las cepas tolerantes usando el método de Tukey, con un nivel de confianza del 95% entre las comparaciones.

Los resultados mostraron que existe diferencia significativa en la tolerancia a metales entre cepas y por concentración de metal, donde la cepa S110 (*Salmonella* Kedougou multiresistente a antibióticos), presentó los porcentajes más altos de tolerancia a Cu, As y Hg en este estudio, a las concentraciones de 0.04, 25 y 0.625  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Considerando estas condiciones de tolerancia, se realizó un ensayo de susceptibilidad en placa con *Salmonella* Kedougou, reconociéndolo como tolerante ya que presentó halos de 0mm.

De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos inferir que la presencia de metales en el ambiente podría determinar cambios moleculares a nivel de serotipo en bacterias como *Salmonella enterica*. Al parecer, los mecanismos de resistencia a antibióticos y a metales pesados tienen alguna correlación en *Salmonella*, por ello es importante evaluar los mecanismos moleculares a través de los cuales *Salmonella* Kedougou hace frente a los metales pesados. Posiblemente la presencia de contaminantes en ambientes acuáticos condicione el intercambio génico de determinantes de resistencia entre las bacterias presentes en estos ambientes.

## EFFECTO DEL CLORPIRIFOS SOBRE LA ESPORULACIÓN DE *Trichoderma* spp. Y SU CAPACIDAD DE REMOCIÓN

Facundo Carrizo (1)\*, Natalia Ávila Carreras (1), Marcos Maldonado (1), Matías Yañez (1), Nadina Tognon (2), Cecilia Heit (2), Alejandra Romero (1)

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Grupo de Investigación INQA, Jujuy, Argentina. (2) Instituto LanaRT, Universidad Nacional de Jujuy, Jujuy, Argentina.

\*carrizo.facundo.16@gmail.com

El Clorpirifós (CPF) es un insecticida, acaricida de amplio espectro, utilizado para el control de insectos en los cultivos de cereales, algodón, frutas y hortalizas. Los radicales cloruros presentes en su estructura molecular reducen su solubilidad en agua, es moderadamente persistente en suelos con una vida media de un año, dependiendo del tipo de suelo, humedad, pH y las concentraciones aplicadas. Las especies del género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones son anaerobios facultativos, adquiriendo una mayor plasticidad ecológica. Este género puede adaptarse y sobrevivir en condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad, características que les permite sobrevivir en ambientes contaminados, posiblemente utilizando al plaguicida como fuente de C y/o N. En el presente trabajo se evalúa el efecto del CPF (comercial) sobre la esporulación de *Trichoderma* spp. y su capacidad de degradar el agroquímico.

Se trabajó con tres cepas del género *Trichoderma* denominadas T52, T72 y T60, aisladas de la Quebrada de Humahuaca – Jujuy por la cátedra de Fitopatología de la FCA - UNJu, se empleó un diseño estadístico completamente aleatorizado, se trabajó por triplicado y se incluyeron control biótico y abiótico. Para determinar la concentración de conidios, se sembró en medio mínimo sólido Czapeck modificado un disco proveniente de una colonia fúngica de 7 días de edad crecida en Agar Papa Glucosado 2%, se incubó a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 7 días, luego se empleó el método de barrido de colonia en condiciones de esterilidad. Para la suspensión de esporos se preparó soluciones seriadas  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$ , se agitó con vortex hasta homogeneizar, se realizó el conteo de conidios en cámara de Neubauer. Cálculo del Porcentaje de Remoción, se sembró un disco, proveniente de una colonia de 7 días de edad cultivada en agar Czapeck modificado con 200 mg/L de CP, en frascos con 30 mL de caldo Czapek modificado enriquecidos con 200 mg/L de CPF y se incubó en agitación a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 15 días. Finalizada la incubación se centrifugó, del sobrenadante se cuantificó la concentración residual del plaguicida.

La concentración promedio en conidios/mL para T52 Control (C) fue de  $3,18 \cdot 10^7$  y el tratamiento  $1,73 \cdot 10^7$ , presentando diferencias significativas con  $p < 0,05$ ; mientras que para T72 (C) fue de  $2,71 \cdot 10^7$  y el tratamiento  $2,32 \cdot 10^7$ ; para T60 (C) fue de  $2,29 \cdot 10^7$  y el tratamiento de  $2,48 \cdot 10^7$ , no presentando diferencias significativas con  $p > 0,05$ , en estas 2 cepas. El porcentaje promedio de remoción del plaguicida en medio Czapeck enriquecido para la cepa T52 fue de 98,7%, le sigue T72 con 97% y T60 con un 81,6%.

La cepa T52 fue la que presentó mayor porcentaje de remoción del CPF, aunque viéndose afectada su esporulación, mientras que en las otras cepas el CPF no afectó significativamente la esporulación con un porcentaje elevado de remoción.

## AISLAMIENTO DE *Aspergillus* sp. A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA ACEITERA Y CARACTERIZACIÓN MEDIANTE ABORDAJE POLIFÁSICO

Romina M. Sánchez (1,2)\*, Florencia Schwab (1), M. Soledad Vela Gurovic (1,2)\*

(1) Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. (2) Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), Universidad Nacional del Sur (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Argentina.

\*rominamagalisanchez@gmail.com, \*svela@uns.edu.ar

La cáscara de girasol, es un residuo abundante de la industria aceitera en nuestro país, con un marcado impacto en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires. En la actualidad, y en el marco de lograr una economía sustentable, existe un gran interés en la revalorización de este tipo de biomasa lignocelulósica. Una de las vías consiste en la utilización de microorganismos degradadores de estos sustratos para la producción de enzimas de interés industrial. En este contexto, previo a conocer la capacidad degradadora de los hongos filamentosos presentes en la cáscara de girasol, el objetivo de este trabajo fue aislarlos e identificarlos mediante caracterización morfo-fisiológica y técnicas moleculares.

Para lograr la proliferación fúngica en el sustrato, la cáscara de girasol se incubó a 37°C hasta observar la aparición de micelio. Los aislamientos se realizaron en Agar Papa Dextrosa (PDA) a 25°C. Las características de la colonia y las estructuras microscópicas diagnósticas se estudiaron mediante observaciones de lupa y microscopía óptica tradicional, a partir de cultivos en placas con PDA incubadas a 20°C, y cultivos en Agar Extracto de Malta (MEA) y Agar Czapek Extracto de Levadura (CYA) incubados a 25 y 37°C. Para la identificación molecular se aisló ADN genómico a partir del micelio utilizando nitrógeno líquido. El ADN se purificó mediante un método tradicional utilizando mezcla Sevag cloroformo:alcohol isoamílico (24:1), etanol al 70%, e isopropanol frío. Se amplificaron las regiones ITS y calmodulina utilizando los primers V9G e ITS4, y CDM5 y CDM6 respectivamente. Para realizar el análisis filogenético se utilizó el método de máxima verosimilitud tomando secuencias a partir de estudios filogenéticos disponibles en la literatura.

Los caracteres morfo-fisiológicos principales que determinaron la presencia de *Aspergillus flavus* fueron: las colonias verde amarillas, flocosas a algodonosas, de rápido crecimiento en todos los medios de cultivo testeados, con producción de esclerocios grandes (>800 µm diám.) en CYA a 25°C, conidióforos y conidios de paredes rugosas, conidios de hasta 6 µm diám. Esto fue confirmado por los estudios filogenéticos, donde la cepa aislada quedó incluida en el clado correspondiente a *A. flavus*, tanto en la filogenia de ITS como en la de calmodulina. En este trabajo se presenta el hallazgo y descripción de *Aspergillus flavus*, una especie capaz de producir enzimas degradadoras de sustratos lignocelulósicos, tanto aquellas que actúan sobre polisacáridos (celulasas, glucanasas y xilanasas), como las que degradan la lignina. Si bien varias especies del género *Aspergillus* son reconocidas por su capacidad degradadora de este tipo de sustratos, como *A. niger*, *A. sclerotiorum*, *A. nidulans* y *A. fumigatus*, el rol en la degradación de la lignocelulosa por parte de *A. flavus* no ha sido tan documentada, y es lo que nos impulsa a continuar explorando su potencial para la degradación de este residuo tan abundante en nuestra región.

## CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE UN RÍO DE USO RECREATIVO EN LA CALDERA, PROVINCIA DE SALTA, DURANTE LA PRIMERA OLA DE COVID-19

Diego Gastón Sanguino Jorquera (1,2), María Noel Maidana Kulesza (1,2), Hugo Ramiro Poma (1), Verónica Beatriz Rajal (1,3)\*.

(1) Instituto de Investigaciones para la Industria Química, UNSa-CONICET, Salta, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina. (3). Facultad de Ingeniería, UNSa, Salta, Argentina.

\*vbrajal@gmail.com

La pandemia ocasionada por SARS-CoV-2 aceleró la búsqueda de sistemas de detección del virus en la población. Aunque una estrategia muy empleada en el mundo fue el monitoreo de aguas residuales, como muestras poblacionales anónimas, en algunos lugares se evaluó la presencia del virus en ríos impactados por esas aguas. Los ríos de uso recreativo tienen un rol importante en el esparcimiento de las personas, y tal es el caso del río La Caldera en la provincia de Salta, Argentina, seleccionado para este estudio por ser un río que no recibe descargas de aguas residuales crudas o tratadas. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) caracterizar el agua del río mediante parámetros fisicoquímicos y microbiológicos y en base a ellos evaluar su calidad para usos recreativos, y 2) evaluar la presencia del SARS-CoV-2 en las muestras de agua.

Se realizó el monitoreo del río La Caldera durante el período comprendido entre julio y diciembre del año 2020 (se registró el pico de casos de COVID-19 en septiembre de 2020), en el que se recolectaron un total de 15 muestras. En el sitio de muestreo se midieron las variables fisicoquímicas: turbidez, conductividad, pH y temperatura, mediante una sonda multiparamétrica. Además, se colectó 1 L de agua para realizar una caracterización microbiológica de las muestras en el laboratorio. Se determinaron bacterias del grupo coliformes totales y coliformes termotolerantes mediante el método de tubos múltiples, y *Escherichia coli* y enterococos mediante recuento en placas en medios selectivos. En simultáneo se tomaron muestras de 20 L de agua que se concentraron mediante ultrafiltración empleando un módulo de fibra hueca, hasta unos 80 mL finales. A partir de los concentrados obtenidos se realizó la extracción de ARN que luego se utilizó para la detección de SARS-CoV-2 mediante RT-qPCR en un tubo. El análisis de los datos se realizó con el programa libre RStudio. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a las variables fisicoquímicas o microbiológicas determinadas durante el monitoreo. Las concentraciones de bacterias indicadoras estuvieron dentro de los valores aceptables para el uso recreativo, con excepción de un único evento de muestreo en que la concentración de enterococos excedió el límite establecido. Sin embargo, y a pesar del cumplimiento de los estándares de calidad microbiológica, se detectó la presencia de SARS-CoV-2 en siete de las muestras (47%) analizadas y la carga viral fluctuó entre  $5,0 \times 10^3$  y  $2,3 \times 10^4$  cg/L.

Estos resultados confirman, por un lado, que las bacterias indicadoras no permiten predecir la calidad viral de las aguas. Por otro lado, aunque el río no recibe descargas directas identificadas de aguas residuales (crudas o tratadas) la presencia del SARS-CoV-2 evidencia la existencia de fuentes de contaminación fecal difusas o de actividades humanas realizadas por personas infectadas, que deberían ser controladas.

## EFFECTO DEL TIEMPO DE RESIDENCIA Y DE LA TEMPERATURA EN LOS SISTEMAS DE DISTRIBUCIÓN DE AGUA POTABLE

Sheila Corimayo (1), Mónica Aparicio González (2), Verónica Rajal (1, 2) y Mercedes Cecilia Cruz(1)\*

(1) Instituto de Investigaciones para la Industria Química, Salta, Argentina. (2) Facultad de Ingeniería – Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta, Argentina.

\*mccruz@conicet.gov.ar

La calidad del agua potable en los sistemas de distribución está afectada por diversos factores, como temperatura, concentración de desinfectante, pH, conductividad, turbidez y tiempo de residencia (TR) del agua en las tuberías. Durante la pandemia COVID-19, muchos edificios experimentaron una reducción en el uso de agua y, por lo tanto, un aumento del TR, lo cual se ha identificado como un potencial problema para la salud. Asimismo, la temperatura del agua afecta procesos físicos, químicos y biológicos en estos sistemas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura y la reducción del uso, en la calidad fisicoquímica y microbiológica del agua durante la cuarentena.

Se recolectaron 48 muestras de agua provenientes de grifos de seis puntos en distintos edificios (agua de red) y dos puntos de almacenamiento (tanque elevado de distribución y cisterna) del campus universitario. *In situ* se midió: conductividad, pH, turbidez y temperatura. En el laboratorio, se determinó la concentración de cloro libre (CL) y se realizaron recuentos de colonias en el medio R2A a 21 °C durante siete días. Los muestreos (2020-2021) se dividieron en tres períodos: abril y mayo (P1), junio y julio (P2) y diciembre y enero (P3).

La temperatura promedio del agua en el P1 fue de  $19.1 \pm 0.6$  °C, descendió en el P2 a  $15.90 \pm 0.02$  °C y fue más alta en el P3 con un valor de  $22.7 \pm 0.2$  °C. El TR aumentó en los P1 y P2 mientras que, en el P3 disminuyó debido al aumento del consumo del agua. Se encontraron valores de pH por encima del permitido (pH 8), en un sitio durante el P1 y en dos sitios durante el P2 y P3. El 4.2 % de las muestras en el P1 presentaron CL por debajo de lo recomendado (0.2 mg/L) y el 16 % en el P3. El CL se correlacionó negativamente con la temperatura ( $R^2 = -0.41$ ,  $p$ -valor  $< 0.05$ ) y no se encontró una correlación con el TR ( $p$ -valor  $> 0.05$ ). La conductividad fue constante a lo largo del muestreo (248 – 287  $\mu$ S/cm). Todas las muestras presentaron una turbidez aceptable ( $< 3$  NTU). La cantidad y diversidad de colonias encontradas en los puntos de almacenamiento fue menor a la encontrada en las muestras de red ( $p$ -valor  $< 0.05$ ). Los recuentos de colonias en R2A en las muestras de red fueron mayores durante el P3 ( $2.3 \times 10^3$  UFC/mL) seguida por el P2 ( $1.3 \times 10^3$  UFC/mL) y P1 ( $9.5 \times 10^2$  UFC/mL). La temperatura del agua fue menor en el P2 que en el P1, posiblemente, este mayor crecimiento de microorganismos en el P2, podría reflejar que el aumento del TR pudo haber promovido un aumento de las células cultivables en el agua.

En general la calidad del agua fue aceptable durante el período de cuarentena. Los valores de pH aumentaron en algunos sitios probablemente debido al bajo consumo de agua. La temperatura afectó al agua de red, disminuyendo el CL, y se observó un aumento en el número de colonias en R2A aún a bajas temperaturas, indicando un posible efecto del TR sobre calidad del agua.

## BIODECOLORACIÓN DE UNA MEZCLA DE COLORANTES TEXTILES USANDO UNA LEVADURA ANTÁRTICA

Ruscasso, Florencia (1)\*; Rios Patricia (1); Curutchet, Gustavo (2);  
Cavello, Ivana (1); Cavalitto, Sebastián (1)

- (1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP, CCT La Plata-CONICET, Calle 47 y 115, 1900-La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.  
(2) Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental -IIIA, UNSAM, CONICET, Campus Miguelete, 25 de mayo y Francia, 1650-San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Escuela de Ciencia y Tecnología e Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, UNASM, CONICET, Av. 25 de Mayo y Francia, 1650-San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina  
\* florenciaruscasso@gmail.com

En comparación con otros sectores industriales, la industria textil es uno de los principales consumidores de agua. Se estima que se requieren alrededor de 200 a 500 litros de agua para producir 1 kg de un producto textil terminado. Por lo tanto, genera grandes volúmenes de aguas residuales, que incluyen sólidos en suspensión, surfactantes, metales pesados y varios tipos de colorantes sintéticos. La cantidad exacta de colorantes liberados al medio ambiente es incierta, pero es bien sabido que en esta industria se utilizan más de 10,000 toneladas de colorantes por año, y alrededor del 10-15% se libera a través de los efluentes durante el proceso de teñido. Debido a la presencia de colorantes y otros compuestos recalcitrantes, el tratamiento biológico convencional es ineficaz y se requiere la aplicación de tratamientos específicos para estos efluentes.

En el presente estudio se utilizaron mezclas de colorantes para imitar las aguas residuales reales de las industrias textiles, los cuales poseen una concentración de colorantes típica entre 10-50 mg l<sup>-1</sup>. Se examinó el rendimiento de decoloración de la levadura antártica *Candida sake* 41E en 5 tipos de colorantes diferentes (Verde Reactivo 19, Amarillo Reactivo 84, Negro Reactivo 5, Violeta Reactivo 5 y Naranja Reactivo 16) así como una mezcla de estos a una concentración final de 100 mg l<sup>-1</sup>, se utilizaron cultivos tipo batch con un medio de composición (en g l<sup>-1</sup>): 5.0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5 MgSO<sub>4</sub>, 0.13 CaCl<sub>2</sub>, 20.0 glucosa, 2.5 extracto de levadura, 1.25 urea, a 20 °C y 150 rpm. Se realizaron las curvas de crecimiento a través de la densidad óptica a 600 nm y a través del método gravimétrico de peso seco. Además, para los cultivos suplementados con un colorante se midió la absorbancia a la longitud de onda máxima de absorción del mismo, y para los cultivos con la mezcla de colorantes se realizó un espectro de absorción entre 190 y 800 nm a fin de analizar la disminución de la absorbancia en el rango establecido. Calculando finalmente el porcentaje de decoloración alcanzado.

A las 48 horas de cultivo se obtuvo una decoloración de más del 95% para los colorantes Naranja Reactivo 16, Negro Reactivo 5, Violeta Reactivo 5 y Verde Reactivo 19, y del 69,4% para el Amarillo Reactivo 84. En cuanto a la mezcla utilizada se observó una decoloración del 70,5 y 83,5 % a las 24 y 48 horas, respectivamente. El proceso de decoloración en todos los casos se asoció a la fase de crecimiento de la levadura. Además, se midió el índice volumétrico de lodos y se obtuvieron valores entre 80 y 130 ml g<sup>-1</sup> los cuales indican una buena y moderada sedimentación de los mismos.

Los resultados de esta investigación muestran que la levadura seleccionada podría lograr un alto rendimiento de eliminación de color para la cada uno de los colorantes seleccionados y la mezcla de los mismos, junto con la buena sedimentación de los lodos indicarían un potencial uso de la levadura para el tratamiento de efluentes textiles.

## PRIMER AISLAMIENTO AMBIENTAL DE *Cryptococcus gattii* EN EL NOROESTE ARGENTINO

María Josefina Marcalain (1)\*, Constanza Taverna (2), Natalia Alejandra Castillo (1)

(1) Cátedra de Micología de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán, Argentina. (2) Departamento de Micología del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". Buenos Aires, Argentina.

\*marcalainjose@gmail.com

La criptococosis es una infección fúngica invasiva que puede afectar al ser humano y diversos animales. Es causada por un grupo de levaduras capsuladas del género *Cryptococcus*, particularmente las del complejo *Cryptococcus neoformans* / *Cryptococcus gattii*, ampliamente distribuidas en la naturaleza. *C. neoformans* se comporta principalmente como patógeno oportunista ya que tiene predilección por individuos inmunocomprometidos, especialmente aquellos con HIV. En contraste, *C. gattii* causa enfermedad en huéspedes inmunocompetentes expuestos al nicho ecológico del hongo. Por lo general ingresa por vía respiratoria y posteriormente se disemina a otras regiones del cuerpo, especialmente al sistema nervioso central. Sus manifestaciones clínicas características incluyen criptococomas pulmonares o cerebrales. Hasta la fecha no existen reportes ambientales sobre la presencia de *C. gattii* en Tucumán, aunque se han reportado dos casos clínicos de criptococosis por este patógeno primario, en los años 2015 y 2017.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la prevalencia ambiental de *C. neoformans* / *C. gattii* y de otras especies potencialmente patógenas de *Cryptococcus* no pertenecientes al complejo en la ciudad de San Miguel de Tucumán.

Se recolectaron 120 muestras en 9 parques y plazas de la ciudad, por hisopado de huecos presentes en distintas especies arbóreas. Las muestras y diluciones realizadas se sembraron en agar semilla de girasol (AGS) con cloranfenicol y se incubaron a 28°C durante una semana con observación diaria. La identificación presuntiva de los aislados sospechosos se realizó mediante examen macro y micromorfológico y mediante pruebas bioquímicas. Luego, la identidad de los mismos se confirmó por biología molecular. La genotipificación de las levaduras del complejo se llevó a cabo por PCR-RFLP del gen *ura5*. Las levaduras no pertenecientes al complejo fueron identificadas mediante amplificación y posterior secuenciación de los dominios D1/D2 del gen 26S y de la región ITS del ADN ribosómico. Luego de la identificación definitiva de los aislados con ayuda del registro de imágenes y de las coordenadas, se regresó a los sitios de muestreo para identificar los árboles a partir de los cuales se obtuvieron los mismos.

Se recuperó un aislamiento de *C. gattii* genotipo VGI y un aislamiento de *C. neoformans* VNI, de huecos de *Jacaranda mimosifolia* (tarco) y *Handroanthus ochraceus* (lapacho amarillo), respectivamente, árboles autóctonos de la provincia. Otras especies potencialmente patógenas como *Papiliotrema laurentii*, *Papiliotrema terrestris* y *Hanaella luteola*, anteriormente clasificadas dentro del género *Cryptococcus*, también fueron recuperadas de especies arbóreas autóctonas y no autóctonas de la provincia.

En el presente estudio se reporta el primer aislamiento ambiental de *Cryptococcus gattii* del noroeste argentino y se reporta por primera vez el aislamiento de *C. gattii* a partir de la especie arbórea nativa *Jacaranda mimosifolia* (tarco).

## METAPROTEÓMICA DE CONSORCIOS BACTERIANOS SINTÉTICOS DEGRADADORES DE HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (PAH): VALIDACIÓN DE ESTUDIOS GENÓMICOS Y FISIOLÓGICOS

Marianela Macchi (1)\*, Esteban E. Nieto (1), María P. Valacco (2); Irma S. Morelli (1,3), Bibiana M. Coppotelli (1)

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina; (2) IQUIBICEN, FCEN-UBA, Buenos Aires, Argentina; (3) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina

\* mariamacchi307@hotmail.com

El análisis metaproteómico permite la validación de las predicciones basadas en análisis genómicos y la interpretación de los ensayos fisiológicos, al identificar las proteínas presentes en los cultivos. Previamente se diseñaron dos consorcios sintéticos (CS) con alta eficiencia de degradación de PAH a partir de cepas aisladas de un consorcio natural: CS-1 constituido por las cepas *Sphingobium* sp. AM, *Pseudomonas* sp. T y Bc-h, *Klebsiella aerogenes* B e *Inquilinus limosus* Inq, y CS-4 conformado por las mismas cepas a las que se agrega la cepa *Burkholderia* sp. Bk. Solo las cepas AM y Bk son capaces de utilizar PAH como única fuente de carbono y energía. El resultado de los análisis genómicos y fisiológicos indicaron un efecto de sinergismo entre todas las cepas que conforman CS-1 y competencia de Bk con las cepas no degradadoras en CS-4.

El objetivo de este trabajo fue comparar los metaproteomas de CS-1 y CS-4 durante la degradación de fenantreno, a fin de confirmar los roles de cada cepa en el proceso, comparándolo con las predicciones ya realizadas.

Se extrajeron las proteínas totales de CS-1 y CS-4 a las 72 h de incubación en medio mineral líquido suplementado con 200 mg/L de fenantreno. El análisis de espectrometría de masas se llevó a cabo en un Orbitrap nano LC MS/MS (Q-Exactive) acoplado a nano-HPLC. Para el procesamiento de datos se utilizaron los programas XCalibur, Proteome Discoverer y Perseus, y los datos fueron depositados en el repositorio PRIDE (EBI) con el identificador PXD022882. La abundancia relativa fue estimada a partir del índice de emPAI y el fold-change de cada proteína fue calculado como la relación emPAI%CS-1/emPAI%CS-4. La categorización funcional se realizó a través de BlastKoala y KEGG mapper.

Se identificaron un total de 1579 (CS-1) y 1622 (CS-4) proteínas. En CS-4, donde están presentes las dos cepas degradadoras, AM y Bk, se observaron numerosas proteínas de AM de expresión única relacionadas a la degradación de xenobióticos. En CS-4, se sobreexpresaron 36 proteínas de AM en relación a CS-1, que se clasificaron principalmente en el metabolismo de carbohidratos, transcripción y traducción, y se subexpresaron 19 proteínas. En las cepas T y Bc-h se sobreexpresaron 10 y 4 proteínas en CS-4 en relación a CS-1, mientras que, en T, B y Bc -h se subexpresaron 102, 52 y 32 proteínas, respectivamente. Estas proteínas están relacionadas con metabolismo energético, de carbohidratos y de aminoácidos. A su vez, estas cepas, subexpresaron proteínas vinculadas a la degradación de xenobióticos en CS-4 con respecto a CS1.

Esto demuestra, en base al perfil proteómico, que en presencia de Bk, AM incrementaría su actividad en CS-4, mientras que las cepas T, B y Bc-h e Inq disminuirían su actividad, lo que indicaría un desplazamiento funcional de estas últimas por Bk, confirmando las predicciones genómicas y los resultados fisiológicos.

## BACTERIAS AISLADAS DE ZONAS DE USO INTENSIVO DE HERBICIDAS BASADOS EN GLIFOSATO CAPACES DE BIODEGRADARLO

Fiorella Masotti, María Victoria Barcarolo, Natalia Gottig, Betiana Garavaglia, Jorgelina Ottado\*  
Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Rosario, Argentina  
\*ottado@ibr-conicet.gov.ar

El glifosato es un fosfonato caracterizado por un enlace estable C-P y es un herbicida de amplio espectro. Su uso está ampliamente distribuido en todo el mundo y en particular en nuestra región en la cual los cultivos resistentes al glifosato han incrementado notablemente los rindes en los últimos años. Comercialmente existen diferentes formulaciones que poseen coadyuvantes denominados genéricamente herbicidas basados en glifosato (GBH). Aunque aparentemente inofensivo para el medioambiente, en comparación con otros herbicidas, a medida que transcurre el tiempo, se ha incrementado la información sobre los riesgos de su uso en el medioambiente, tanto en insectos, animales y el hombre. Recientemente, la Organización Mundial de la Salud ha clasificado a este herbicida como posible carcinogénico.

Las bacterias son capaces de metabolizar fosfonatos por diferentes vías metabólicas y por lo tanto el objetivo de este trabajo fue aislar bacterias autóctonas provenientes de la zona rural de la localidad de Chañar Ladeado, provincia de Santa Fe, que presenta suelos tratados con GBH durante muchas campañas. Estas bacterias son capaces de utilizar glifosato como fuente de fósforo. Por lo tanto nuestro objetivo fue disponer de aislamientos que permitan metabolizar y detoxificar la molécula de glifosato de ambientes naturales, en el caso de ser necesario.

Como resultado de una serie de aislamientos en presencia de la formulación comercial Roundup Ultramax, se obtuvieron entre otras, bacterias pertenecientes a los géneros *Achromobacter* spp., *Ochrobactrum* spp., *Pseudomonas* spp., *Pantoea* spp. y la especie *Agrobacterium tumefaciens* y *Acinetobacter guillouiae*, que fueron capaces de utilizar GBH como fuente de fósforo. Las especies identificadas molecularmente que presentaron mayor capacidad de degradación de GBH fueron: *Achromobacter denitrificans* SOS5, *Achromobacter insolitus* SOR2, *Achromobacter xylosoxidans* SOS3, *Agrobacterium tumefaciens* CHLDO y *Ochrobactrum haematophilum* SR. Las cepas de *Achromobacter* spp. mostraron un porcentaje de degradación de alrededor de 40% y *A. tumefaciens* CHLDO y *O. haematophilum* SR de alrededor del 50%, luego de 96 h de crecimiento en un medio mínimo suplementado con 1,5 mM de GBH. En base a estos resultados, calculamos una Eficiencia de Degradación (Q) de GBH entre 43 y 54 mg/g para las bacterias estudiadas. También hemos realizado ensayos de degradación utilizando glifosato puro y AMPA donde obtuvimos valores de Q para el glifosato puro similares a los de GBH, mientras que la eficiencia de degradación fue mayor para AMPA. Se secuenció la cepa *A. tumefaciens* CHLDO y se están utilizando los genes del cluster de degradación de fosfonatos en otros chasis bacterianos para poder realizar estudios sobre el mecanismo de degradación.

Los resultados obtenidos brindan información valiosa para continuar con la generación de herramientas para biorremediar el herbicida en el medioambiente.

**MICROORGANISMOS ASOCIADOS A PLANTAS NATIVAS ACUMULADORAS DE PLOMO**

Eugenia Menoyo (1)\*, M. Julieta Salazar (2), Alejandra G. Becerra (2)

(1) Instituto de Matemática Aplicada San Luis (IMASL)–CONICET, Universidad Nacional de San Luis. San Luis, Argentina. (2) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV)-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

\*emenoyo@gmail.com

En remediación ambiental los estudios que involucran organismos nativos presentes en ambientes contaminados son de especial importancia. Los organismos nativos han sido capaces de adaptarse a las condiciones propias del lugar, formando relaciones interespecíficas que le permiten subsistir. La utilización de especies nativas en biorremediación favorece dichas interrelaciones y promueve la recuperación de la biodiversidad local. El objetivo de este trabajo fue estudiar los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados a plantas nativas acumuladoras de plomo (Pb).

Se analizaron las especies vegetales que crecen naturalmente en suelos con diferente concentración de Pb (14-16.186  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). La abundancia de esporas de HMA fue determinada en la rizosfera de arbustos, herbáceas y pastos nativos. Las esporas se extrajeron a través de la técnica de decantación, tamizado húmedo y gradiente de sacarosa; bajo lupa estereoscópica se determinó la densidad como número de esporas/100 g de suelo seco. Se analizó la relación entre la densidad de HMA y la concentración de Pb en el tejido vegetal (vástago y raíz).

Todas las especies vegetales estudiadas acumularon Pb con una escasa traslocación a la parte aérea. La densidad de esporas de HMA se correlacionó de manera negativa con la concentración de Pb del sistema radical. Las asociaciones planta-HMA en suelos con inóculo fúngico natural permitirían el desarrollo de la comunidad vegetal en ambientes altamente contaminados con Pb.

**BIORREMEDIACIÓN DE RESIDUOS DERIVADOS DE LA INDUSTRIA ACEITERA**

Julián Escalante, Natalia Gottig, Jorgelina Ottado, Betiana Garavaglia\*  
Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Rosario, Argentina  
\*garavaglia@ibr-conicet.gov.ar

La producción de aceites vegetales es una actividad industrial de suma importancia en Argentina. El método más ampliamente usado para purificar aceites vegetales crudos comestibles es el de refinamiento caústico o alcalino. El proceso emplea una solución acuosa de soda cáustica que reacciona con los ácidos grasos libres para formar jabones. Los jabones junto con fosfatos hidratados, gomas y metales oxidantes son separados del aceite refinado y forman una fase pesada que se descarga de la centrífuga de refinación y es conocida como "soapstock". Posteriormente, parte de los ácidos grasos libres son recuperados mediante un proceso conocido como acidulación, en el cual un ácido, usualmente ácido sulfúrico, es usado para escindir el "soapstock" en sus partes componentes: fase oleosa (oleína) y fase acuosa. Como resultado de este proceso se recupera una buena parte del volumen residual generado durante el refinamiento alcalino, aunque se generan grandes volúmenes de fase acuosa ácida y de interfase, que retiene el resto de los componentes insolubles.

Con el objetivo de minimizar el impacto ambiental de estos residuos ácidos y altamente insolubles, se aislaron y caracterizaron bacterias provenientes de la interfase y de la fase ácida. Se estudió su capacidad de crecimiento en la mezcla residual y actividades enzimáticas. Se midió el efecto del tratamiento de biorremediación a través de la medición de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), sólidos remanentes totales (SRT) y bioensayos de toxicidad con semillas de *Lactuca sativa*.

Como resultado del aislamiento, se obtuvieron bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus* spp. (aislados FA-10, I-30, I-43 e I-49), *Enterobacter* sp. (aislado I-48) *Pseudomonas* sp. (aislado I-41), *Lysinibacillus* sp. (aislado I-42), *Klebsiella* sp. (aislado I-44), *Enterococcus* sp. (aislado I-46) y *Staphylococcus* sp. (aislado I-47). La caracterización de las actividades enzimáticas reveló una amplia variedad de actividades de estos aislados, tales como lipasa (presente en todos los aislados), proteasa (presente en los aislados I-41, I-42, I-48) fosfolipasa (presente en I-41) y celulasa (presente en I-49). Los aislados I-41, I-43, I-48 e I-49 reportaron una disminución significativa de la DQO luego del tratamiento en agitación durante 1 semana (17, 24, 21, 24% respectivamente), pero estos valores no parecen estar relacionados con la disminución de SRT (solamente I-41 e I-48 mostraron una disminución significativa de SRT). No obstante, en el caso de I-43 e I-49 sí mostraron un vínculo directo con la disminución en la toxicidad del residuo luego del tratamiento (alrededor de un 50%).

Estos resultados sugieren que los aislados I-43 e I-49, serían buenos candidatos para el tratamiento y disposición segura de este residuo en el medio ambiente.

## DINÁMICA DE LA CONCENTRACIÓN NORMALIZADA DE SARS-CoV-2 EN UN RÍO URBANO DE SALTA ALTAMENTE IMPACTADO POR AGUAS RESIDUALES

María Noel Maidana Kulezsa (1,2), Juan Martín Mainardi Remis (1,3), Sarita Isabel Reyes (1,2),  
Ramiro Poma (1), Verónica Beatriz Rajal (1,3)\*

(1) Laboratorio de Aguas y Suelos, Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Salta (UNSa), Salta Argentina. (2) Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina. (3) Facultad de Ingeniería, UNSa, Salta, Argentina.

\*[vbrajal@gmail.com](mailto:vbrajal@gmail.com)

Desde el inicio de la pandemia por SARS-CoV-2, tanto autoridades del gobierno como la comunidad científica a nivel mundial, se abocaron a la búsqueda de herramientas para detectar de manera temprana y oportuna los casos de COVID-19 en las poblaciones. Estudios demostraron que el SARS-CoV-2 replica de manera efectiva en el intestino, eliminándose en grandes cantidades a través de las heces humanas. De esta manera, se podría utilizar el análisis de las aguas residuales como herramienta de vigilancia epidemiológica. El objetivo de este trabajo fue analizar la relación existente entre el número notificado de casos de COVID-19 y la concentración viral de SARS-CoV-2 en un río altamente impactado por las descargas de una planta de tratamiento de aguas residuales.

Para el monitoreo, se seleccionó el río Arenales que cruza la ciudad de Salta, Argentina. Éste recibe las descargas de efluentes industriales y efluentes cloacales ilegales, además de estar directamente impactado por las descargas de la planta de procesamiento de aguas servidas que nuclea la mayor parte de la ciudad. Se tomaron un total de 15 muestras de 20 l cada una, desde julio hasta diciembre de 2020 y se caracterizaron fisicoquímica y microbiológicamente. Se concentraron las muestras a través de ultrafiltración, empleando un módulo de fibra hueca descartable, obteniendo un volumen final de 80 ml promedio. De este volumen, se separaron alícuotas para extracción de ácidos nucleicos y se realizaron los análisis del gen N de SARS-CoV-2 por RT-qPCR, y Poliomavirus Humano JC-BK (HPyV) y RNAsaP por qPCR como indicadores humanos y normalizadores. Al tratarse de un cuerpo de agua superficial, sufre la influencia de factores externos en su caudal (lluvias), por lo que se normalizó la concentración de SARS-CoV-2 utilizando HPyV y RNAsaP, a lo largo del tiempo. De manera simultánea, se registraron los casos activos de COVID-19 en la ciudad de Salta y se realizó un análisis de correlación entre la concentración normalizada de SARS-CoV-2 en el agua de río y los casos notificados. Los resultados mostraron que la máxima concentración que se obtuvo fue de  $7,33 \times 10^6$  cg/l durante el pico de la pandemia en la ciudad de Salta (septiembre de 2020). Asimismo, el mayor número de casos informados también correspondió al mes de septiembre. El análisis de correlación demostró una asociación fuerte y positiva entre ambas variables ( $\rho = 0,89$ ;  $p = 0,00084$ ) durante el período de estudio.

El monitoreo y seguimiento de cuerpos de aguas superficiales que reciben el impacto de efluentes domésticos sin tratamiento o tratados de manera deficiente, situación muy común en países en vías de desarrollo, es útil para evaluar la circulación del SARS-CoV-2 en una comunidad. Esto puede resultar en una potencial herramienta de vigilancia que refleje la situación epidemiológica de una población, lo que ayudaría a la toma de decisiones por parte de las autoridades de salud.

## SUELOS CONTAMINADOS CON PLOMO AFECTAN LA COMUNIDAD DE HONGOS MICORRÍFICO ARBUSCULARES

Alejandra G. Becerra (1\*), Eugenia Menoyo (2), Valeria Faggioli (3), Marta Cabello (4), Alejandro Pardo (5), M. Julieta Salazar (1)

(1) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV)-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. (2) Grupo de Estudios Ambientales (GEA), Instituto de Matemática Aplicada San Luis (IMASL) - CONICET, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Marcos Juárez, Marcos Juárez, Argentina. (4) Instituto Spegazzini, La Plata, Argentina. (5) Laboratorio de Micología Molecular, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

\*abecerra@unc.edu.ar

En Córdoba, Bouwer es una de las localidades más afectadas por la contaminación con metales pesados (MP). En los procesos de biorremediación ambiental es importante comprender la interacción planta-microorganismos del suelo. En este sentido la mayoría de las plantas establecen simbiosis con Hongos Micorrízico Arbusculares (HMA) mejorando la tolerancia frente a los MP.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la concentración de plomo (Pb) en el suelo sobre la comunidad de HMA en tres especies vegetales acumuladoras de Pb (*Sorghum halepense*, *Bidens pilosa* y *Tagetes minuta*) creciendo en sitios contaminados con Pb. En la localidad de Bouwer, en torno a una ex-fábrica recicladora de baterías ácidas, se seleccionaron sitios con diferente concentración de Pb (de 14  $\mu\text{g g}^{-1}$  a 16.186  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). En cada sitio se extrajo suelo rizosférico de cada especie vegetal (n= 2-3 individuos). De cada muestra se extrajeron las esporas de HMA para su identificación taxonómica y para la cuantificación de densidad (número de esporas/100 g de suelo seco). Los datos se analizaron estadísticamente a través del análisis de la varianza multivariados permutacionales.

Se identificaron un total de 24 morfoespecies pertenecientes a los géneros *Acaulospora*, *Glomus*, *Paraglomus*, *Funneliformis*, *Rhizophagus*, *Gigaspora*, *Racocetra*, *Septoglomus*, *Denticustata* y *Entrophospora*. Los niveles de Pb de los diferentes sitios y la identidad de las plantas mostraron un efecto significativo sobre la composición taxonómica de los HMA. Se observó una clara separación entre la comunidad fúngica del sitio más contaminado (16.186  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) del resto de los sitios. Las especies de HMA del sitio más contaminado fueron: *Gigaspora decipiens*, *Glomus brohultii*, *G. tortuosum*, *Acaulospora laevis* y *A. excavata*.

Se sabe que la contaminación por Pb es uno de los factores ambientales que pueden alterar la comunidad de HMA. En este trabajo se muestra que la composición taxonómica de los HMA, presentes en la rizosfera de las plantas acumuladoras, son afectadas por la contaminación de Pb. Además, determinadas especies son capaces de persistir y mantenerse dentro de estos ambientes contaminados. La selección y utilización de especies nativas de HMA que exhiban tolerancia al Pb son muy importantes para propósitos de biorremediación en Bouwer.

## EVALUACIÓN ENZIMÁTICA DE HONGOS SEPTADOS OSCUROS (DSE) AISLADOS DE UN SUELO IMPACTADO POR HIDROCARBUROS

Fernando J. Ureta Suelgaray (1)\*, Raúl Lavado (2), Viviana M. Chiocchio (1,2)

(1) Cátedra de Microbiología Agrícola. FA-UBA. (2) Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA-CONICET). Av San Martín 4453. C.A.B.A. Argentina.

\*ureta@agro.uba.ar

Se considera que la importancia ecológica y agronómica de los hongos DSE radica en la obtención de nutrientes a partir de sustancias orgánicas complejas presentes en los suelos, los cuales no están directamente disponibles para las plantas hospedantes. Estos hongos tienen la capacidad de producir enzimas extra e intracelulares, permitiendo así la degradación y posterior utilización de dichos compuestos, altamente recalcitrantes, para su propio crecimiento y, adicionalmente, para su utilización por las plantas y otros microorganismos.

A partir de este planteo, se realizó una evaluación cualitativa de diversas enzimas extracelulares producidas por 8 cepas de hongos DSE aislados de una zona impactada por hidrocarburos, con el objetivo de estudiar su capacidad para degradar estos contaminantes. Se realizaron ensayos *in vitro* evaluando las enzimas: celulasas, lignin-peroxidasas, fenol-oxidasas, lacasas y lipasas. La identificación de los aislamientos utilizados en los experimentos se realizó mediante taxonomía clásica, donde se evaluaron caracteres macroscópicos de las colonias (crecimiento fúngico en distintos medios de cultivo: AEM, PDA, Agar-Agua y Agar Sabouraud) y el reconocimiento de células conidiógenas y conidios. La incubación se realizó durante dos semanas, a dos temperaturas (15 y 25 °C) y en condiciones de luz y oscuridad. Se midió el diámetro de crecimiento de la colonia fúngica a los 7 y 14 días desde la siembra.

Se observaron diferencias en la velocidad de crecimiento entre medios y hongos. Seis de las cepas completaron el diámetro de la placa en el tiempo de incubación, en los medios de cultivo y temperaturas ensayadas. Se observó en siete de las cepas la formación de conidios en al menos uno de los medios, lo que permitió una primera identificación a nivel de género. De este modo, se identificaron dos cepas pertenecientes al género *Monodictys*, tres cepas del género *Alternaria*, una cepa correspondiente a *Ophiosphaerella*, y una a *Exserohilum*. Todos los hongos dieron una reacción positiva para la actividad de fenol-oxidasas, destacándose la reacción presentada por las cepas de *Monodictys*. Dichas cepas resultaron también con reacción positiva para lignin-peroxidasas. La presencia de dichas enzimas estaría indicando la capacidad de estos hongos para degradar compuestos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). Todas las cepas respondieron positivamente a la degradación de celulosa como única fuente de C. Las cepas de *Monodictys* y *Alternaria* tuvieron resultados positivos en el ensayo de lipasas.

Estos experimentos indican que estos hongos tendrían la capacidad de degradar compuestos con estructuras químicas complejas, entre ellos contaminantes como los hidrocarburos de petróleo. Además, tendrían capacidad emulsificante ya que la actividad de lipasas se encuentra ligada a la síntesis de compuestos surfactantes.

## DIVERSIDAD Y RIQUEZA DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN LA ANTIGUA MINA “PARAMILLOS DE USPALLATA”, MENDOZA, Y SUS ALREDEDORES

Sofía Utge Perri (1), Roxana Colombo (1,2), Adalgisa Scotti (3), Mariano Aguilar (4), Luis Lenzano Andía (4), Alicia Godeas (1,2), Vanesa Silvani (1,2)\*

(1) Lab. Microbiología del Suelo. Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

(2) Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada, UBA-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. (3) Laboratorio Bioambiental, *International Center of Earth Sciences*, Comisión Nacional de Energía Atómica- Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional San Rafael, Mendoza, Argentina (4) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

\* vsilvani@bg.fcen.uba.ar

La contaminación del suelo con metales pesados (MP) producto de la minería genera una reducción drástica de la biodiversidad y la fertilidad del suelo. Las minas ‘Paramillos de Uspallata’ en Mendoza son las más antiguas del país, cuentan con una prolongada explotación hasta el cese de su actividad en 1981. A pesar de esas condiciones, es posible hallar hongos micorrícicos arbusculares (HMA) asociados a la escasa vegetación, perteneciente a la estepa xerófila. El estudio de los HMA en estos sitios ofrece la posibilidad de identificar cepas tolerantes a MP y aplicar estos hongos en futuros procesos de restauración del ambiente.

En este trabajo, esporas de HMA fueron aisladas e identificadas taxonómicamente, y se estimó su abundancia, diversidad y riqueza dentro de la mina (área urbana: U; área de explotación y tratamiento: E) y en un área no explotada (F). Las esporas extraídas a partir de suelo (10 g peso seco) de cada sitio por tamizado húmedo fueron cuantificadas y caracterizadas morfológicamente por microscopía.

Dentro de la mina se observó una menor abundancia, diversidad y riqueza de especies de HMA en comparación al sitio natural no explotado. Predominando aquellas de la familia Glomeraceae y Claroideoglomeraceae, siendo los géneros más abundantes: *Claroideoglosum* y *Septoglosum*. El área más afectada fue la escombrera donde no se detectaron esporas de HMA ni vegetación. Por el contrario, el área por fuera de la mina presentó mayor diversidad y riqueza, contando con 7 especies distintas de 5 familias (Glomeraceae, Claroideoglomeraceae, Acaulosporaceae, Entrophosporaceae y Diversisporaceae) coincidiendo con una mayor diversidad de especies vegetales y bajas concentraciones de MPs en los suelos. Algunas especies de HMA coincidieron entre los sitios contaminados U y E, tales como *Funneliformis geosporum* y *Claroideoglosum etunicatum*. Estas 2 especies fueron las más abundantes en estos sitios, donde también disminuyó el número de familias (2 y 3 familias, respectivamente).

Se concluye que la degradación físico-química de los suelos en Paramillos de Uspallata impactó sobre las comunidades de HMA, disminuyendo su biodiversidad y riqueza, sin embargo, algunas de las especies halladas en la mina pudieron sobrevivir a tal actividad y/o fueron re-introducidas naturalmente luego de la explotación.

## ESTADO MICORRÍFICO DE HUMEDALES URBANOS Y BOSQUES RIBEREÑOS DEL ÁREA METROPOLITANA DE BUENOS AIRES

Roxana Colombo (1)\*, Deborah Ragas (2), Matias Benavidez (1), Laura Fernandez Bidondo (3),  
Vanessa Silvani (1) Fernando Pereyra (2), Alicia Godeas (1)

(1) Laboratorio de Microbiología del Suelo - Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA-CONICET-UBA). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. (2) Departamento de Ambiente y Turismo. Universidad Nacional de Avellaneda. Avellaneda, Buenos Aires, Argentina. (3) Laboratorio de Micología Molecular, Instituto de Microbiología Básica y Aplicada - Departamento de Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de Quilmes. Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

\*colomboroxanap@gmail.com

Los humedales urbanos y bosques ribereños cumplen un rol fundamental en la mitigación del estrés asociado al cambio climático en las urbes, pero la creciente degradación ecológica de estos ambientes aumenta su vulnerabilidad y riesgo de erosión. Las raíces de las plantas, la materia orgánica y las micorrizas arbusculares (MA), éstas últimas mediante sus hifas y la producción de glomalina, son los principales estabilizantes estructurales del suelo. La propagación de consorcios MA-plantas estratégicos en los humedales urbanos sería clave para la regeneración ecológica y la estabilización edáfica en estos ambientes. Nos proponemos estudiar la diversidad de MA y el estado micorrícico en humedales del AMBA.

Los sitios elegidos fueron: Suelos sobre material de relleno: Reserva Ecológica Costanera Sur (CS), Reserva Ecológica Ciudad Universitaria Costanera Norte (CN); suelos naturales: Eco Área Avellaneda (EA) y Bosques de Ezeiza (E). Se muestreó vástago y raíz de plantas, para su clasificación y cuantificación de micorrización, y el suelo asociado para aislar esporas de MA y medir propiedades edáficas. Cada muestra se clasificó según la influencia del cuerpo de agua principal: inundado periódicamente (I); raramente inundado (R); senderos altos no inundables (S).

En la CS se tomaron 9 muestras. Las características del suelo fueron: textura franco-limosa, pH 7, CE 0,2 Ms/cm, P 14,7ppm, Mat Org 4,3%. Las raíces en I, presentaron 52,9% de colonización por MA, en R 94,8% y en S 45,5%. Las esporas de MA aisladas que pudieron ser clasificadas correspondieron a: *Rhizophagus* sp. 1 y sp.2, *Glomus microaggregatum* y *Sclerocystis sinuosa*. En la CN se tomaron 9 muestras. Las características edáficas fueron: textura franco-limosa, pH 7,6, CE 0,3 Ms/cm, P 1,5 ppm, Mat Org 2,8%. Las colonización por MA en I fue de 37,2%, en R 86,5% y en S 68,7%. Las esporas aún no se determinaron. En la EA se muestreó solo el sector I. Las características del suelo fueron: textura arenosa, pH 6,6, CE 0,5 Ms/cm, P 25 ppm, Mat Org 0,8%. Las raíces presentaron un 76,5% de colonización MA. En un muestreo previo la micorrización del sector S fue 11%. Las esporas presentes fueron del género *Paraglomus*. En E, se tomaron 10 muestras. Las características edáficas fueron: textura arenosa, pH 7,5, CE 0,6 Ms/cm, P 16,7 ppm. Las raíces en I presentaron 63,3% de colonización MA, en R 82,8% y en S 28,2%. Los MA observados fueron *G microaggregatum*, *S. sinuosa*, *Entrophospora infrequens* y *Funnelformis constrictum*. Las plantas hospedantes asociadas fueron: *Hydrocotyle* sp., *Euphorbia* sp., *Erigeron bonariensis*, *Lotus* sp y *Solidago chilensis* (en E), *Cortaderia selloana* (en CS, CN y E), *Verbena* sp. (En CS y CN), *Lantana* sp. (en CS) y *Dipsacus follonum* (en CN).

Varias especies de MA y plantas nativas se encuentran presentes en todos los sitios muestreados. La micorrización observada presentó valores altos y fue afectada por la cercanía a senderos y el contacto con el agua.

## TRATAMIENTO BIOLÓGICO PARA LA REMOCIÓN DEL COLORANTE TEXTIL VIOLETA REACTIVO 5

Florencia Ruscasso (1)\*; Mariel Scaramutti (1); Gustavo Curutchet (2); Sebastián Cavalitto (1); Ivana Cavello (1)

- (1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), UNLP, CCT La Plata-CONICET, Calle 47 y 115, 1900-La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.  
(2) Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental -IIA, UNSAM, CONICET, Campus Miguelete, 25 de mayo y Francia, 1650-San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Escuela de Ciencia y Tecnología e Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, UNASM, CONICET, Av. 25 de Mayo y Francia, 1650-San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina  
\* florenciaruscasso@gmail.com

Las aguas residuales de las industrias textiles son una mezcla compleja de sales, ácidos, metales, y colorantes. Presentan un elevado contenido de materia orgánica difícilmente degradable, con una concentración final en el efluente de colorante de alrededor de 2-200 mg l<sup>-1</sup>, elevada conductividad (12500-3500 µS cm<sup>-1</sup>) y elevado pH 7.0-10.0. Los efluentes producen en la superficie de los cuerpos de agua problemas con la penetración de la luz y de transferencia de oxígeno en el interior de estos, afectando la actividad fotosintética y la vida acuática. Además, debido a su propia toxicidad, así como debido a la presencia de compuestos aromáticos, metales, cloruros, etc., son perjudiciales también para los organismos vivos que beben y viven en estas aguas.

A través de los años se han empleado varios métodos físicos, químicos y biológicos, no sólo para la eliminación de color contenido en las aguas residuales, sino también para la mineralización completa de los colorantes. Sin embargo, los métodos convencionales de decoloración de los efluentes no resultan eficientes. Por lo tanto, la remoción, o inclusive la mineralización de colorante, por acción microbiana ha sido considerado un método atractivo debido a que es un método simple, económicamente efectivo, que causa un mínimo impacto ambiental y produce menos cantidad de lodos.

*Leucosporidium mucorum* F20A, levadura adaptada al frío, presentó capacidad de producir halo de decoloración al enfrentarla a un test de medio sólido suplementado con diferentes colorantes textiles. Como primer paso para su potencial uso como remediador de efluentes se la enfrentó a efluentes simulados con distintos colorantes textiles (Amarillo Reactivo 84, Verde Reactivo 19, Rojo Reactivo 141, Violeta Reactivo 5 y Naranja Reactivo 16) variando la concentración de glucosa del medio (20-40 g l<sup>-1</sup>) utilizando el medio *Normal Decolorization Media*. Se seleccionó por su velocidad de decoloración al colorante Violeta Reactivo 5 (VR-5) y una concentración de glucosa de 20 g l<sup>-1</sup> para continuar los primeros estudios cinéticos de decoloración a escala de Erlenmeyer.

Al realizar cultivos líquidos con el efluente simulado en presencia del colorante VR-5 se observó que luego de 33 hs de cultivo se llega a un 99% de decoloración. La mayor reducción de la concentración de colorante (mg l<sup>-1</sup>) ocurre durante la fase de crecimiento exponencial demostrándose que la decoloración se encuentra asociada a la etapa de crecimiento de la levadura. La tasa de decoloración volumétrica fue de 5.21 mg l<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>. En presencia del colorante la levadura creció con una velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{max}$ ) de 0.20 ± 0.02 h<sup>-1</sup>, al igual que en el cultivo biótico, lo cuál indica que la presencia del colorante no inhibe el crecimiento de la levadura.

*L. muscorum* F20A fue capaz de decolorar el efluente simulado con el colorante azoico VR-5 sugiriendo que esta levadura podría ser una alternativa para el tratamiento de efluentes textiles.

## PROGRESO EN LA RECONSTRUCCIÓN METABÓLICA A ESCALA DEL GENOMA DE LA CEPA DEGRADADORA DE PAH *Sphingobium* sp. AM

Marianela Macchi (1)\*, Marina Granada (1), Nelson E. Vega-Vela (2,3), Bibiana M. Coppotelli (1) (1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina. (2) Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. (3) Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia. (4) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina.

\* mariamacchi307@hotmail.com

Los estudios microbiológicos se basan cada vez más en métodos *in silico* para realizar la exploración y análisis rápido de datos genómicos. La biología de sistemas aborda el entendimiento de la complejidad y la dinámica de los sistemas biológicos más allá del estudio particular de sus componentes. La obtención de una red metabólica a escala del genoma es una técnica informática que permite predecir funciones celulares, comportamientos e interacciones inferidas de la secuencia del genoma, ahorrando así la instancia experimental una vez que fue validado. El análisis de balance de flujos (FBA) es una aproximación de optimización empleada rutinariamente para establecer los fenotipos y las capacidades metabólicas de un sistema biológico como resultado de la evaluación de diferentes condiciones en el ambiente. *Sphingobium* sp. AM es una bacteria Gram-negativa de la familia *Sphingomonadaceae*, degradadora de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH), cuya característica metabólica más estudiada es su capacidad para degradar fenantreno e intermediarios de la degradación como única fuente de carbono y energía. En este trabajo, con el fin de predecir las respuestas fenotípicas de la cepa AM en términos de flujos metabólicos y simular las condiciones en que se mejoraría la biodegradación en un proceso de biorremediación, se comenzó con la construcción de un modelo metabólico a escala genómica a partir de la anotación del genoma de AM (NCBI: 1176302).

El flujo de trabajo consistió en incorporar todas las reacciones, con la estequiometría y la reversibilidad y establecer las asociaciones GPR (gen-proteína-reacción), utilizando datos fisiológicos, caracterización bioquímica y literatura científica (BiGG, MetaNetX, MetaCyc, Rhea, KEGG). Mediante la plataforma KBase se agregaron reacciones faltantes. Se mapearon y conciliaron los términos asociados a metabolitos y reacciones entre los modelos borrador y aquellos utilizados como molde para facilitar la reconstrucción y curación manual entre estos recursos y con diferentes bases de datos. Se obtuvieron distintas redes en función de las restricciones establecidas. El modelo construido de AM consta de 1241 genes, 2772 reacciones y 1465 metabolitos clasificados en 23 subsistemas metabólicos. Para estimar las distribuciones de flujo óptimas bajo el crecimiento celular maximizado, se formuló la ecuación de biomasa considerando valores estándar, recopilando datos fisiológicos de AM y la anotación de genomas de referencia. Empleando el complemento COBRA Toolbox de MatLab, se identificaron los metabolitos *dead-end*, reacciones huérfanas, redundantes y duplicadas.

Se logró avanzar en la reconstrucción del modelado de la cepa AM, completando la mayoría de las reacciones del sistema y validando una reacción de biomasa, que podrá ser utilizada como reacción objetivo para explorar la versatilidad metabólica de esta bacteria.

## APLICACIÓN DE CEPAS AUTÓCTONAS EN ESTRATEGIA DE BIOAUMENTO PARA REMEDIAR SUELOS CRÓNICAMENTE CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

Debora Conde Molina (1)\*, Franco Liporace (1), Carla Quevedo (1).

(1) Grupo de Procesos Biotecnológicos, Facultad Regional Delta, Universidad Tecnológica Nacional, Campana, Argentina.  
dconde@frd.utn.edu.ar

Uno de los problemas ambientales más importantes es la recuperación de áreas contaminadas con hidrocarburos del petróleo, principalmente en las zonas industriales. El polo petroquímico Zárate-Campana, Buenos Aires, Argentina, presenta un historial de contaminación de más de 100 años. Por lo tanto, el desarrollo de tecnologías de biorremediación sitio-específico, compatibles con el medio ambiente, resulta prioritario para el tratamiento de dichos pasivos ambientales.

En este trabajo se estudiaron 6 cepas de bacterias degradadoras de hidrocarburos TK1A2, MT1A3, LG1A, AG1A, CO1A1 y CO1A2, previamente aisladas de sitios crónicamente contaminados con hidrocarburos e identificadas en los géneros *Pseudomonas*, *Cellulosimicrobium* y *Ochrobactrum*. Con el fin de evaluar el crecimiento y la capacidad de producir biosurfactantes, cada una de las cepas fue cultivada en frascos Erlenmeyer conteniendo medio mínimo salino, fuente de carbono (mezcla de hidrocarburos, glucosa, glicerol, suelo de leche bovino, suero de leche ovino, aceite de girasol refinado, aceite de girasol alto oleico, aceite de maní crudo, aceite de maní frito o aceite de camelina) y fuente de nitrógeno ( $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , urea). Todas las cepas fueron capaces de crecer en las fuentes de carbono y nitrógeno ensayadas. Asimismo, todas presentaron mayor crecimiento en aceite de maní crudo como fuente de carbono. MT1A3, LG1A, AG1A y CO1A2 tuvieron mayor crecimiento en  $\text{NaNO}_3$  como fuente de nitrógeno, mientras que las cepas TK1A2 y CO1A1 no presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) de crecimiento entre las fuentes de nitrógeno. MT1A3, TK1A2, CO1A1 y CO1A2 no mostraron ser productoras de biosurfactantes en las condiciones ensayadas, mientras que en los medios de cultivos con LG1A y AG1A se registró disminución de la tensión superficial con respecto a los controles en varios de los medios formulados. La cepa AG1A fue la que presentó mayor capacidad de producción de biosurfactantes en todas las fuentes de carbono, excepto en mezcla de hidrocarburos y en aceite de camelina; y en todas las fuentes de nitrógeno.

Posteriormente, todas las cepas fueron cultivadas en medio mínimo salino, aceite de maní crudo y  $\text{NaNO}_3$ . La mezcla de cepas se empleó como bioaumento en un sistema de microcosmos para la remoción de hidrocarburos de un suelo crónicamente contaminado. El tratamiento mostró que las bacterias aerobias heterótrofas totales aumentaron durante los 90 días, mientras que la cantidad de bacterias degradadoras de hidrocarburos se mantuvieron estables. Se alcanzó una degradación de 84,17% de hidrocarburos totales, cuando se aplicó el bioaumento, mientras que en el control (atenuación natural) se redujo el 72,06%. En base a estos resultados, las cepas autóctonas estudiadas presentan potencial para ser aplicada en la técnica de bioaumento, lo cual resulta ser una alternativa prometedora combinada con una estrategia de bioestimulación para remediar los suelos del sitio de estudio.

## ESTRUCTURA Y ADQUISICIÓN DE LOS MÓDULOS CRISPR-Cas EN GENOMAS DE *Shewanella*

Teolincacihuatl Ayala (1)\*, Gabriela Cerbino (1), Gisela Parmeciano Di Noto (1), Leonel Marquez Perea (1), Daniela Centrón (1), Andrés Iriarte (2), Cecilia Quiroga (1).

(1) Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM,UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. (2) Laboratorio de Biología Computacional, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

\*olincayalan88@gmail.com

Los sistemas CRISPR-Cas (por sus siglas en inglés, *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*) son considerados el sistema inmune adaptativo de bacterias y arqueas, que proveen protección contra fagos y/o plásmidos. Se clasifican en 2 clases, 6 tipos y 44 subtipos. Generalmente, están compuestos por un arreglo de CRISPRs, una región líder y el operón *cas*. El arreglo de CRISPR y el operón *cas* se encuentran adyacentes, sin embargo, puede haber arreglos distantes (lejos del operón *cas*) o arreglos huérfanos (en genomas carentes del operón *cas*). Estos sistemas pueden asociarse a elementos genéticos móviles (EGM), que podrían contribuir en su diseminación. Se conoce poco sobre la adquisición y difusión de los módulos portadores de sistemas CRISPR-Cas de los subtipos I-F y I-E. El objetivo de este trabajo fue analizar el entorno genético de los sistemas tipo I-E y I-F en *Shewanella* spp., con el fin de identificar los posibles mecanismos de transferencia y sitios de inserción.

Para ello, se buscaron estos sistemas con la herramienta CRISPRCasFinder V1.4 en 144 genomas (completos y *draft*) de *Shewanella* spp. Se detectaron 42 sistemas correspondientes a los tipos I-E (9), I-F1 (23), I-F2 (4), III-B (5) y tipo IV-A (1). La coocurrencia de sistemas fue casi nula. Se detectaron 19 arreglos huérfanos y 11 distantes en diversas especies. Los sistemas se encontraron principalmente en bacterias de procedencia acuática. La mayoría de los arreglos poseían >40, y hasta un máximo de 152 CRISPRs. El análisis comparativo de entornos mediante ACT V18.1.0 en genomas con y sin sistemas tipo I-F1 y I-E reflejó que el sistema tipo I-F1 se encuentra dentro de un módulo que contiene genes de recombinación o EGM ( $\Phi$ P4-*int*, *xerC*, ISs) o asociados a otros sistemas de defensa (TA tipo II y IV). Además, se observó que se encuentran insertados en el genoma en el locus *ric-yicC* de *Shewanella*. Se comprobó una alta conservación de secuencia en el sitio, lo que sugiere que la integración ocurriría mediante una recombinación sitio-específica. Asimismo, se vio que un genoma que carece del sistema I-F1 (*S. sp.* LC6) contiene en este locus una isla putativa (24 kb), que alberga otros sistemas de defensa (3 TA de tipo II y 1 RM). Con respecto a los sistemas tipo III-B en este género, se observó que se ubican en entornos distintos, y que en algunos casos este sistema puede compartir el sitio de inserción con un transposón tipo Tn7. Finalmente, el análisis de los entornos de los sistemas tipo I-E mostró que en el caso de *S. algae* el locus IFP-*pbpC* puede estar invadido por sistemas tipo I-E o I-F1, sugiriendo que comparten el mismo sitio de inserción.

Nuestros resultados proporcionan nueva información sobre los módulos que albergan los sistemas CRISPR-Cas tipo I-E y I-F en *Shewanella* spp. que pueden contribuir en su transferencia y la evolución de las islas de defensa, y sugieren que debe haber un reconocimiento de secuencia para la integración del módulo.

## ANÁLISIS DEL GENOMA ACCESORIO DEL GÉNERO *Shewanella*: EVIDENCIA DE RASGOS GENÉTICOS ESPECÍFICOS DE ESPECIE E INDEPENDIENTES DE NICHO

Gabriela Cerbino (1), Teolicancihuatl Ayala Nuñez (1), Germán Traglia (2), Leonel Marquez Perea (1), Andrés Iriarte (2), Cecilia Quiroga (1)\*

(1) Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM), Facultad de Medicina, Buenos Aires, Argentina. (2) Laboratorio de Biología Computacional, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

\*cc.quiroga@gmail.com

Las bacterias del género *Shewanella* son bacilos gram-negativos anaerobios facultativos que pueden desarrollarse en ambientes acuáticos, en suelo, pueden ser comensales en animales y causar infecciones tanto en animales como en humanos. Estas bacterias pueden ser utilizadas para biorremediación ambiental y generación de energía. Poco se sabe de los rasgos genéticos que contribuyen a su adaptabilidad y patogenicidad, los cuales están generalmente codificados en islas genómicas o elementos genéticos móviles (EGMs). El objetivo de nuestro trabajo fue realizar un estudio exhaustivo del genoma accesorio del género *Shewanella*, con énfasis en el moviloma y el viruloma, con el fin de dilucidar su evolución y su posible relación con el ambiente.

Se construyó un árbol filogenómico (maximum-likelihood, LG+G) usando genes ortólogos de 144 genomas de *Shewanella* spp. y se calculó el ANI, lo que permitió identificar linajes formados por grupos mono y polifiléticos. El análisis del moviloma utilizando diferentes herramientas bioinformáticas mostró que el género *Shewanella* posee una amplia variedad de EGMs: plásmidos=58, secuencias de inserción (ISs)=178, profagos=99, elementos integrativos y conjugativos (ICE)=15, integrones móviles=12 e intrones del grupo II=42. ISs y profagos fueron los EGMs de mayor ocurrencia (88.89% y 45.83% respectivamente), mientras que plásmidos e intrones del grupo II fueron encontrados en el 29.17% de los genomas. Los plásmidos tenían un tamaño entre 4 kb y 356 kb aprox. Estos pertenecían a grupos de incompatibilidad conocidos (IncA/C, IncP) o codificaban replicasas específicas del género y circulaban, mayormente, en el linaje *S. bicestrii*/*S. xiamenensis* (B/X). Por otro lado, se detectaron 178 ISs pertenecientes a 19 familias diferentes. Los linajes B/X y *S. baltica* mostraron el mayor número de ISs. No se observó una correlación entre el tipo de EGMs y el nicho del aislamiento. Asimismo, se comprobó que cada genoma tenía al menos 3 islas genómicas (y hasta 27) con tamaños entre 10 y 100 kpb. Varias de ellas codificaban genes asociados a transferencia, patogenicidad o defensa. Al respecto, 41 genomas poseían sistemas CRISPR-Cas de tipo I-E, I-F, III-B y VIA, siendo el tipo I-F el más frecuente. Se comprobó que los linajes clínicos *S. algae* y BX tenían genes de resistencia ubicuos, que podrían ser utilizados como marcadores biológicos. Finalmente, se detectaron 363 genes que podrían conferir fenotipos virulentos mostrando una asociación positiva entre los sistemas de secreción de tipo 6 (T6SS) y el linaje *S. algae*, lo que explicaría la patogenicidad de esta especie.

Nuestro análisis evidencia una clara asociación entre algunos EGMs o genes de virulencia con determinados linajes monofiléticos. El género *Shewanella* tiene un genoma accesorio diverso y versátil, que contribuye a su adaptación y supervivencia tanto en vida libre como simbiote y revela el potencial que tienen otros linajes para evolucionar y adaptarse a nuevos nichos.

## VARIABLES AMBIENTALES Y SU RELACIÓN CON LA CARGA FÚNGICA EN AMBIENTES INTERNOS UNIVERSITARIOS

Maximiliano Gabriel Gómez\*, Emiliano Lautaro Gómez Quintero, Lidia Sabina Rodríguez, Gladis Jerke, Marta Aurelia Horianski

Módulo de bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales,  
Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Argentina.

\*maxi.gabriel.gomez@gmail.com

La aeromicrología puede definirse como la ciencia que estudia y cuantifica los bioaerosoles fúngicos en relación con su variación temporal y espacial y en cómo se ven afectados por factores meteorológicos. Estas determinaciones revisten particular importancia en el campo de la salud preventiva ya que las esporas fúngicas pueden dar lugar a alergias y en casos graves micosis y micotoxicosis. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las relaciones entre la cantidad de colonias fúngicas aisladas (Q) y distintas variables ambientales medidas en ambientes internos del módulo de Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de Misiones.

Durante el periodo comprendido entre 2017-2019, se realizaron 2 muestreos por estación climática del año en 10 ambientes internos del Módulo de Bioquímica y Farmacia, utilizando el método pasivo de sedimentación en placas de Petri con Agar Papa Dextrosa/Rifampicina colocadas a 1–1,5m de altura, expuestas por 15min. Se registró la temperatura interna (TI), temperatura externa (TE), humedad relativa externa porcentual (HRE%), humedad relativa interna porcentual (HRI%), presión atmosférica (PA) y nivel de actividad humana (NAH) clasificado en alta (>20 personas), media (5-20) o baja (<5). Las placas se incubaron en estufa a  $28^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 5 días. Para los análisis ambientales se utilizó el programa estadístico *InfoStat* versión 2017 de la Universidad Nacional de Córdoba y se calcularon: las pruebas de bondad de Ajuste (Chi cuadrado) para la distribución de los residuos de las variables, el coeficiente de correlación de Spearman entre Q y TI, coeficientes de correlación de Pearson para Q versus TA, HRE%, HRI% y PA; mientras que, para NAH se empleó una prueba T unilateral izquierda y una prueba F unilateral izquierda, por ser una variable categórica.

Los resultados obtenidos para la prueba de bondad de ajuste mostraron una distribución normal para los residuos de Q, HRE%, HRI%, TE y PA, no así para TI con  $p=0,0394$ . El coeficiente de correlación de Spearman fue:  $\rho(\text{rho})= -0,11$  con  $p\text{-value}= 0,3336$ ; las correlaciones, estadísticamente significativas, de Pearson fueron de 0,37 para HRE% y 0,3 para HRI%, con  $p\text{-value}<0,01$  en ambos. Se registraron NAH bajo y medio. La prueba T unilateral izquierda de igualdad de medias arrojó un valor T de -1,82 con  $p\text{-value}= 0,0497$ , además, la prueba F unilateral izquierda para igualdad de varianzas mostró  $F= 0,42$  con  $p\text{-value}= 0,0208$ .

Se comprueba que al aumentar la HRE% y HRI% también aumenta Q según las correlaciones positivas moderadas de Pearson, mientras que, la significancia estadística de la prueba de Spearman para TI no permite rechazar la  $H_0$ ; Además, existen diferencias entre las varianzas y las medias en los NAH y las Q, siendo menores para NAH bajo mostrando que, a mayor NAH mayor Q. Si bien los aumentos en los niveles de humedad y la Q están bien documentados, no ocurre así para los NAH por lo que es un factor a tener en cuenta al momento de realizar estos controles ambientales.

## ESTUDIO DE LA ARQUITECTURA DE LOS SISTEMAS CRISPR-CAS DE TIPO III PRESENTES EN GENOMAS BACTERIANOS

Leonel Marquez Perea\*, Teolincacihuatl Ayala Nuñez, Gabriela Cerbino, Cecilia Quiroga  
Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET),  
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.  
\*leonelmarquezperea@gmail.com

Los sistemas CRISPR-Cas (por su siglas en inglés, *clustered regularly interspaced short palindromic repeat - CRISPR associated proteins*) son considerados los sistemas inmunes adaptativos de bacterias y arqueas, que generan inmunidad luego de una primera exposición a ADN foráneo, como fagos o plásmidos. Esta inmunidad viene dada por la actividad de las proteínas Cas y la interacción de los *spacers* presentes en los CRISPRs con el material genético invasor. Los sistemas de tipo III se clasifican en 6 subtipos (III-A a III-F), y son unos de los más diversos y polimórficos, capaces de interactuar tanto con ADN como con ARN. Poco se sabe sobre la distribución de los sistemas de tipo III en genomas bacterianos y su ocurrencia en distintos ambientes. El objetivo de este trabajo fue estudiar la arquitectura de los sistemas CRISPR-Cas de tipo III en bacterias provenientes de ambientes con bajas temperaturas y alta salinidad.

Para llevar a cabo este trabajo se generó un *dataset* con 1562 sistemas de tipo III-A a III-D publicados en la base de datos CRISPR-CasFinder (se excluyeron los tipo III-E y -F, que fueron recientemente clasificados). Estos se encontraron en una gran diversidad de especies y se observó una mayor frecuencia en Firmicutes (24.97%). Del total de los sistemas, 867 (55.5%) pertenecía al tipo III-A, 387 (24.8%) al tipo III-B, 56 (3.6%) al tipo III-C y 252 (16.1%) al tipo III-D.

En ambientes marinos y nichos con bajas temperaturas (n=89) se observó una mayor incidencia de estos sistemas en Proteobacterias y Firmicutes. Varios de estos genomas (65; 73%) contenían de 2 a 5 sistemas. La coexistencia más frecuente correspondió a los sistemas tipo III-A con I-E, y a los sistemas tipo III-B con los tipos I-C, I-E y I-F. Gran parte de los sistemas III-A carecían del gen *csm6* (35/36), el cual es esencial para brindar inmunidad *in vivo*; también se observó la ausencia de los genes *cas1* y *cas2*. Por otro lado, la mayoría de los sistemas de tipo III-B carecían de la proteína Cas6 (33/36), responsable del procesamiento del arreglo de CRISPRs; mientras que la mayoría de los tipos III-D se encontraban incompletos. Con respecto a los CRISPRs, 81/89 de los operones *cas* tenían uno o más arreglos adyacentes, con una gran diversidad en el número de *spacers* (de 1 hasta 113). Algunos arreglos (26) se hallaban en regiones distales de un operón *cas*, y no pudieron ser asociados a un sistema. El análisis de entornos mostró que algunos sistemas comparten el mismo *locus* en el genoma.

Nuestro trabajo permitió observar una gran diversidad de sistemas CRISPR-Cas tipo III en nichos acuáticos o suelos de condiciones extremas, los cuales podrían estar activos y proporcionando inmunidad al hospedador. La co-ocurrencia de sistemas en un genoma fue considerable, siendo el tipo III-A el de mayor ocurrencia. La ausencia de algunos genes *cas* en el operón sugiere actividades limitadas que podrían ser compensadas por otros sistemas, como fue propuesto para otras bacterias.

## OPTIMIZACIÓN DE MEDIOS DE PRODUCCIÓN ECONÓMICOS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOSURFACTANTES UTILIZANDO MICROORGANISMOS EXTREMÓFILOS

Rivero, Mariano (1)\*, Gutiérrez Cacciabue, Dolores (1, 2), Rajal, Verónica B (1, 2), Irazusta, Verónica (1, 3).

(1) Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI) – CONICET – Universidad Nacional de Salta (UNSa), Salta, Argentina. (2) Facultad de Ingeniería – UNSa, Salta, Argentina.

(3) Facultad de Ciencias Naturales – UNSa. Av. Bolivia 5150, Salta, Argentina.  
soymarianorivero@gmail.com

Los biosurfactantes son compuestos producidos por microorganismos que tienen la capacidad de reducir la tensión superficial. Si bien estas biomoléculas tienen ventajas sobre sus pares sintéticos, los costos de producción son altos. Una opción podría ser utilizar subproductos industriales como sustratos económicos que contienen carbono en su composición. Los objetivos fueron: formular medios de cultivos económicos para la producción de biosurfactantes con licor negro (LN, alcalino) y vinaza (V, ácido), subproductos de las industrias de papel y alcohol, y evaluar el crecimiento microbiano y la producción de biosurfactantes.

Previamente se aislaron 39 microorganismos a partir de V y LN y se seleccionaron 6 con capacidad de producir biosurfactantes (3 acidófilos: a1, a5, a6 y 3 alcalófilos: b1, b2 y b17). Se formularon medios de cultivo ácidos (MA) y básicos (MB) para evaluar la producción.

La optimización de la producción para los microorganismos seleccionados se hizo mediante diseños factoriales ( $2^2$ ) considerando los siguientes factores: concentración de carbono y tiempo de producción. Las respuestas medidas fueron el cambio en la tensión superficial ( $\Delta\gamma$ ) entre el medio estéril y el de producción con crecimiento microbiano (método de la gota colgante (goniómetro) con un dispositivo multiaguja), y la densidad óptica ( $DO$ ) (espectrofotómetro). La optimización se realizó en dos etapas. Una inicial utilizando medios con V o LN suplementado con caldo nutritivo (CN). Los resultados de la etapa inicial se utilizaron para definir nuevos diseños factoriales con punto central ( $2^2$ ) utilizando solamente V o LN y analizando los mismos factores y respuestas que en el primer caso. Se fijó la relación C/N en 15,9 y 18,8 para ambos medios: ácido (MA con V) y alcalino (MB con LN). En el caso del MA, se realizaron dos diseños factoriales adyacentes ( $2^2$ ) con punto central para estudiar en mayor detalle el efecto del factor tiempo de producción.

En la etapa inicial (con CN como suplemento) los microorganismos alcanzaron en promedio un  $\Delta\gamma=11,68$  mN/m los acidófilos y un  $\Delta\gamma=6,88$  mN/m los alcalófilos. Los microorganismos acidófilos alcanzaron  $DO$  mucho mayores (1,06-1,42) que los alcalófilos (0-0,45). Cuando se utilizó solamente V o LN para preparar los medios de producción (MA y MB), ninguno de los microorganismos evaluados logró disminuir la tensión superficial respecto del control en los tiempos analizados, con excepción de b1 ( $\Delta\gamma=3,89$  mN/m). Los microorganismos acidófilos alcanzaron mayores  $DO$  (0,13–0,38) que los alcalófilos (0,1–0,16).

Si bien utilizar medios formulados con vinaza y licor negro es una estrategia positiva para reducir costos, la eliminación total del CN no permitiría un crecimiento significativo de los microorganismos evaluados ni de producción de biosurfactantes. Será importante formular los medios combinando cantidades adecuadas de dichos subproductos y complementándolos con CN, aceites u otras sustancias que brinden los nutrientes necesarios.

**PARÁMETRO DE CALIDAD DE AGUA, CASO DEL CLORO RESIDUAL Y SU RELACIÓN CON *Legionella pneumophila* EN RESERVORIOS DOMICILIARIOS DE AGUA POTABLE**

Liliana Silvina Lösch (1, 2)\*; Héctor Marcelo Marín(1) ;Marcelo Gabriel Medina (1);  
Juan Leandro Pellegrini (1); Luis Antonio Merino (1).

(1) Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste. Resistencia, Chaco.  
Argentina. (2) Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes capital,  
Corrientes. Argentina.  
silvinalosch@gmail.com

*Legionella* spp. son organismos ubicuos en ambientes de agua dulce donde se encuentran relacionados a diversos organismos o como parásitos intracelulares de amebas de vida libre. Desde estos ambientes pueden pasar a colonizar y proliferar en los sistemas de distribución y almacenamiento de agua tratada principalmente en relación a los biofilms que allí se desarrollan. *Legionella pneumophila* es la principal especie implicada en la Enfermedad del Legionario que se contrae a partir de la inhalación de aerosoles contaminados con esta bacteria. En Argentina la calidad del agua destinada a consumo humano está establecida por el Código Alimentario Argentino (CAA) pero la ausencia de indicadores de calidad de agua que contemplen a patógenos de transmisión aérea llevó a evaluar la relación entre *L. pneumophila* y la concentración de cloro libre residual en reservorios domiciliarios. El objetivo del estudio fue detectar la presencia de *L. pneumophila* y comparar con la concentración de cloro libre residual en tanques de almacenamiento de agua potable de la ciudad de Resistencia, Chaco.

Mediante un muestreo no probabilístico se tomaron 30 muestras de agua de los depósitos domiciliarios de Resistencia. El protocolo utilizado para el aislamiento de *Legionella* fue el cultivo, siguiendo las recomendaciones de la norma ISO 11731:2017. En todas las muestras de cultivo positivas identificadas como *Legionella* spp., acorde a la normativa internacional, se realizó un ensayo de qPCR con colorante intercalante (Sybr Green). Las dianas genómicas utilizadas fueron el gen *23SrRNA* y el gen *mip* para corroborar el género e identificar *L. pneumophila*, respectivamente. La determinación de cloro residual en los depósitos de agua se realizó en el momento del muestreo utilizándose para ello tiras de control para cloro libre y total con rango de medición de 0-10 Cl<sub>2</sub>mg/l.

De las 30 muestras analizadas 11 fueron positivas para *L. pneumophila* (11/30; 36,6%). En todas las muestras positivas para esta bacteria la concentración de cloro residual en los depósitos de agua fue de 0 Cl<sub>2</sub>mg/l. En tanto que en los reservorios donde no se obtuvo desarrollo de *Legionella* spp. el rango de concentración de cloro libre residual osciló entre valores 0,5-2 mg/l.

El CAA establece que en las aguas ubicadas en los reservorios domiciliarios no es obligatoria la presencia de cloro activo. Sin embargo, y en concordancia con reportes de otras partes del mundo, la presencia de compuestos biocidas ayudaría a evitar la proliferación de este patógeno emergente causante de cuadros de neumonía severa.

## DEGRADACIÓN ANAERÓBICA DE EFLUENTES AGROINDUSTRIALES CON MUY ALTO CONTENIDO DE SULFATOS: EL PROBLEMA DE LA REDUCCIÓN A SULFUROS Y SUS CONSECUENCIAS EN LA ESTABILIDAD DEL BIODIGESTOR

Valentina Girardi (1,2), Camila Olivera (1,2), Lucía Fattobene (1), Ma. Laura Tondo (1,2), Ma. Sol Herrero (1), Leonardo M. Pérez (1,2), Lucas M. Salvatierra (1,2)\*

(1) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Ambiental, Química y Biotecnología Aplicada – INGENBIO-, Facultad de Química e Ingeniería del Rosario, Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA). (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, Argentina.

\*lucas\_salvatierra@uca.edu.ar

La presencia de azufre en procesos de la agroindustria es usual observarla en aquellos efluentes provenientes de la producción de oleínas mediante corte con ácido sulfúrico, o en vinazas durante la producción de alcohol. En el presente trabajo se estudió el efecto de la presencia de una alta carga de azufre, como sulfato, en un efluente agroindustrial, al ser tratado mediante un proceso de biodigestión anaeróbica con la consecuente producción de biogás. Este sustrato, llamado SS, posee alrededor de 100g/l de DQO, un pH = 4 y una carga de sulfatos de 25g/l.

Se emplearon 6 reactores anaeróbicos independientes, de 3 litros de líquido cada uno, con capacidad para trabajar en modo semicontinuo y mezcla completa, registrando el volumen diario de producción de biogás y la calidad de éste en términos de la concentración relativa de CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S y N<sub>2</sub>.

Durante la etapa de estabilización, los 6 reactores fueron alimentados diariamente con una Carga Orgánica Volumétrica (COV) de trabajo equivalente a 2g DQO/litro.día, mediante el suministro un efluente de base (BS), con DQO alrededor de 200g/l. Luego de la estabilización, se diversificaron los reactores con proporciones crecientes de un efluente conteniendo una alta carga de azufre (SS). En todos los casos, se mantuvo la COV constante, adecuando los volúmenes totales finales para mantener la proporción volumétrica. Así, el reactor R1: BS 100% = control; el reactor R2: BS 90% - SS 10%; R3: BS 70% - SS 30%; R4: BS 50% - SS 50%; R5: BS 30% - SS 70%; y R6: SS 100%.

El ensayo duró 50 días, período en el cual se realizaron pudieron comparar todos los parámetros medidos, incluyendo pH, producción y calidad de biogás, balance de azufre (como sulfato y sulfuros), DQO, etc. Se hicieron extracciones de ADN y secuenciación del gen 16S rARN, a tiempo inicial y al finalizar. Se observó un proceso inhibitorio a medida que se aumentó la proporción de SS en la alimentación diaria, evidenciado por el aumento de la abundancia relativa de bacterias reductoras de sulfatos.

**EVALUACIÓN DE DIFERENTES BIOMEZCLAS PARA SU USO COMO CAMAS BIOLÓGICAS**

Sebastián Blanco (1)\*, Andrea A. Sirio (1), Federico Elorza (2), Sebastián Carnicer (1),  
Natalia Mansilla (3), María E. Castelan (1)

(1) Instituto Agrotécnico “Pedro M. Fuentes Godo” – Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Argentina. (2) Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. (3) Ministerio de Industria, Producción y Empleo

\*sebastblanco@hotmail.com

En la Argentina se cultivan aproximadamente unas 37,5 millones de hectáreas, para la optimización de los rendimientos es importante considerar el uso de productos fitosanitarios, sean estos de origen natural o de síntesis química, de esta manera puedan asegurar la sanidad de los cultivos. A menudo ocurren errores en la manipulación que pueden generar derrames al momento de la carga de los equipos pulverizadores o bien en el lavado de los mismos, provocando contaminación accidental puntual. El uso de las “camas biológicas” surge con el objetivo de evitar este tipo de contaminación, a través de la retención de fitosanitarios y posterior degradación por acción microbiana de los componentes presentes en la biomezcla. El objetivo de este trabajo fue evaluar a través de variables biológicas, biomezclas para su uso como camas biológicas, con agregado de tres agroquímicos (atrazina, clorpirifos y glifosato) simulando una situación de derrame.

Los tratamientos fueron: T1 (suelo), T2 (biomezcla conformada por rastrojo de maíz picado y suelo) y T3 (biomezcla conteniendo suelo, aserrín y compost). Las proporciones usadas en los tratamientos fueron: T1: 100% suelo; T2: 70% maíz y 30% suelo; T3: 50% aserrín, 25% compost y 25% suelo. Las biomezclas se dejaron madurar por 60 días, antes de contaminarlas con los fitosanitarios. Se simuló una situación de derrame, utilizándose una concentración de los principios activos de: 80 ppm de Atrazina (A), 2000 ppm de Glifosato (G) y de 480 ppm de Clorpirifós (C). Los fitosanitarios se probaron en los tres tratamientos en diferentes bandejas, por triplicado. Se determinaron los fitosanitarios (al día 1, 30 y 60) por HPLC-UV (Atrazina y Clorpirifos) y HPLC-FD con derivatización pre-columna con 9-FMOC para Glifosato y AMPA. Se cuantificó la actividad hidrolítica sobre diacetato de fluoresceína (FDA), (día 0 y 60). Se midió la actividad respiratoria basal (día 0 y 60). Se realizó un ANOVA y las diferencias entre las medias se probaron con test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Se utilizó el software estadístico INSFOSTAT.

Las medias obtenidas a los 60 días, por tratamiento en lo referido a la actividad respiratoria basal fueron, para Clorpirifos (C): T1C 0,77 A; T2C 91,57 B; T3C 93,9 B; para Glifosato: T1G 2,3 A; T2G 248,8 B; T3G 75,93 A; para Atrazina: T1A 1,7 A; T2A 85,4 B; T3A 84,23 B. Las medias obtenidas a los 60 días por tratamiento en lo referido a la actividad hidrolítica sobre FDA fueron, para clorpirifos: T1C 84,7 A; T2C 248,83 B; T3C 275,5 B; para Glifosato: T1G 198,13 B; T2G 124,4 A; T3G 279,83 C; para Atrazina: T1A 182,2 A; T2A 247,57 B; T3A 303,03 B. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos.

Según los datos obtenidos, el tratamiento con 100% suelo presentó menores valores en lo que respecta a ambas variables biológicas estudiadas, en comparación con las biomezclas formuladas, concordando con otros estudios en similares condiciones.

## UTILIZACIÓN DE LA ANFOTERICINA COMO FUENTE DE CARBONO Y ENERGÍA

Maximiliano Gutierrez\*, Graciela Pucci

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia, Argentina.

\*gutierrez.me@hotmail.com

La anfotericina B es un antibiótico del tipo anti fúngico y antiparasitario, poliénico y macrólido, muy utilizado en infecciones sistémicas potencialmente mortales. Por su alta efectividad y uso, su introducción en el medio ambiente como desecho, impacta en la microbiota que tras la adaptación de microorganismos con mecanismos para degradar moléculas complejas, genera individuos capaces de crecer a expensas de él. El objetivo del trabajo consistió en identificar y comprobar la capacidad de una comunidad proveniente de un suelo contaminado con hidrocarburos para adaptarse a la degradación y subsistencia a expensas de anfotericina B (ANFO B) como única fuente de carbono.

La comunidad provino de un suelo contaminado con hidrocarburos de larga data. Se expuso a concentraciones de ANFO B en medio base mineral con 100 ppm del antibiótico, por repiques sucesivos y cultivo a 28°C con agitación constante. Al décimo repique del cultivo, semanalmente por 21 días se siguió el desarrollo por medición de la absorbancia a 600 nm y la degradación de la ANFO B por variación de absorbancia a 328 nm. Se sembró la comunidad en medio agar sangre para evaluar actividad hemolítica. Se realizaron recuentos en agar Mueller Hilton con 100 ppm de antibiótico extrayéndose las colonias visualmente distintas, para realizar tinción de Gram de cada una de ellas y tinción de naranja de acridina a la comunidad. Tanto la comunidad y las cepas separadas se cultivaron en medio líquido tripteína de soya con ANFO B (100 ppm) para extracción de ácidos grasos según el protocolo propuesto por Sherlock MIDI versión 6.0. Se aislaron e identificaron las bacterias por Sherlock MIDI. Los resultados demuestran el desarrollo de la comunidad con una utilización del 61 % de ANFO B en 21 días. La comunidad presentó espuma persistente en la agitación y actividad hemolítica en agar sangre, indicando posibilidad de producir biosurfactantes. En el recuento celular se observaron  $7,4 \times 10^3$  UFC/ml, separándose 6 colonias distintas. La tinción de Gram arrojó presencia de bacilos +, bacilos -, cocobacilos - y cocos + coincidiendo en morfologías con lo visto en naranja de acridina. El análisis de ácidos grasos de la comunidad presentó marcadores cy17:0 y 18:1w7c asociadas a bacterias Gram - y 5:0, a15:0, i15:0, 16:0, a17:0, i17:0 asociadas a bacterias Gram +. Los ácidos grasos de las 6 cepas separadas se asociaron con *Yersinia bercoveri*, *Pseudomona diminuta*, *Pseudomona versicularis*, *Micrococcus luteus* y *Alcaligenes faecalis*. El suelo mostró microorganismos con capacidad de desarrollarse a expensas de la ANFO B utilizándola como fuente de energía.

La ANFO B seleccionó un gremio bacteriano que fue caracterizado por el análisis de sus ácidos grasos, cultivo en agar sangre, tinción de Gram y de naranja de acridina. Ante la posibilidad de producir biosurfactantes es posible profundizarse a futuro.

**BIOPROSPECCIÓN EN AGRORESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS: *Streptomyces albus* CAS922 VERSUS BACTERIAS COMPETIDORAS EN ESTADO SÓLIDO**

M Soledad Vela Gurovic (1,2)\*, Julian Dietrich (1,2)

(1) CERZOS, UNS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (2) Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

\*svela@uns.edu.ar

Los residuos generados por la actividad agrícola se encuentran entre los más abundantes del planeta. Con el fin de reutilizar este material, las biorrefinerías transforman los azúcares simples de esta biomasa lignocelulósica en biocombustible y diversos compuestos de interés industrial. No obstante, el pretratamiento para degradar la lignocelulosa genera inhibidores lo que disminuye los rendimientos. En la naturaleza los sustratos lignocelulósicos se descomponen gracias a la acción de consorcios microbianos que crecen allí en estado sólido. La así llamada fermentación en estado sólido (FES) ha demostrado potencial como estrategia de cultivo para la producción microbiológica de enzimas y diversos metabolitos de interés industrial. No obstante, existen aspectos poco explorados como la descontaminación del sustrato sólido, su capacidad de reducir la carga microbiana, generar compuestos inhibidores, degradar nutrientes y las respectivas consecuencias sobre el crecimiento del microorganismo productor. Las estrategias de bioprospección deberían considerar no sólo la productividad de la cepa sino también su capacidad para tolerar las condiciones de cultivo.

Recientemente, *S. albus* CAS922 fue aislada a partir de cáscara de girasol. En el presente trabajo nos propusimos evaluar su crecimiento en estado sólido y su competitividad frente a los microorganismos nativos del propio sustrato. Con un fin comparativo, se estudiaron otras dos cepas aisladas a partir de suelo: *Streptomyces* sp. SUE01 y *Streptomyces* sp. 3501. Se analizaron los efectos de la temperatura, el pH y diferentes procedimientos de descontaminación del sustrato sobre el crecimiento de los microorganismos.

Como sustrato se utilizó cáscara de girasol y sustrato residual obtenido del cultivo de *Pleurotus ostreatus* en cáscara de girasol. Ambos sustratos fueron sometidos a autoclavado y pasteurización. Luego de incubar durante 24 y 48 h en estado sólido (65% humedad), se realizaron recuentos en placa tanto de las cepas inoculadas como de las bacterias nativas del sustrato que sobrevivieron al tratamiento térmico. Los efectos de la temperatura se evaluaron en sustrato residual pasteurizado (SRP) incubando las tres cepas a 37 °C y 45 °C por 24 y 48 h. Para evaluar los efectos del pH, el SRP fue tamponado con buffer fosfato a pH 7 y pH 8.

Los recuentos en SRP fueron superiores a los obtenidos en otros sustratos y procedimientos de descontaminación. Entre las tres cepas evaluadas, CAS922 presentó los mayores recuentos. El aumento del pH favoreció diferencialmente el crecimiento de esta cepa con respecto a las bacterias competidoras propias del sustrato.

El aislamiento de microorganismos degradadores a partir de los mismos sustratos a degradar resultó una estrategia exitosa en la bioprospección de cepas mejor adaptadas y más resistentes a la metodología de cultivo.

## BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS: ESTUDIOS PRELIMINARES DEL ALGA *Undaria pinnatifida* COMO BIOFERTILIZANTE DEL SUELO PATAGÓNICO

Maximiliano Mendes Rosa (1,2)\*, Alicia Marchiaro (1,2), Adrian Acuña (4), Graciela Pucci (1,3).  
(1) Facultad de Ciencias Naturales - (2) Facultad de Ingeniería - (3) CEIMA Centro de Estudios e Investigación en Microbiología Aplicada UNPSJB, Comodoro Rivadavia – Argentina. (4) UTN FRSC, Río Gallegos- Argentina  
\*prnemesispr@gmail.com

El alga invasora *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae) se ha extendido ampliamente a lo largo de la costa Patagónica, constituyendo un riesgo para el equilibrio ecológico. Una forma de reducir el impacto sería utilizarla como fertilizante del suelo patagónico para favorecer la biodegradación de hidrocarburos. La extracción de hidrocarburos, principal actividad económica en la zona del Golfo San Jorge, posee como consecuencia negativa la contaminación de suelos por derrames accidentales. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la potencialidad del empleo de *U. pinnatifida* como biofertilizante para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburo.

El suelo contaminado con hidrocarburo se recolectó de un sitio de reposición ubicado en la cuenca del Golfo San Jorge. La recolección de las algas se llevó a cabo en forma manual en el área media de la costa patagónica (46° 02' S y 67° 36' O). Las mismas se lavaron con agua corriente y se centrifugaron a 2800 r.p.m durante 5 minutos, se secaron a temperatura ambiente durante 20 días, se trituraron y se conservaron en ambiente seco y oscuro. Al suelo y al alga se le realizó un análisis químico básico. La cuantificación inicial y final de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) de la muestra de suelo se realizó mediante una extracción Soxhlet con n-hexano. Se armaron biorreactores conteniendo 200 g de suelo, 20 g de alga triturada y agua destilada correspondiente al 50% de capacidad de retención de agua de este suelo, en frascos estériles color caramelo y se incubaron a temperatura ambiente durante 38 días. Como sistema control se utilizó un biorreactor en iguales condiciones, pero sin el agregado del alga. El dióxido de carbono liberado del sistema se fija en hidróxido de sodio contenido en un frasco colector situado dentro de cada biorreactor y el carbonato formado se titula con ácido clorhídrico de concentración conocida.

El análisis químico del suelo muestra las características propias de suelo patagónico, con bajos valores de nitrógeno y fósforo, no posee metales pesados. El suelo presentó un valor inicial de TPH de 3,25% luego de los 38 días este valor disminuyó a 2,76% para el sistema control y a 1,59% para el sistema suelo+alga, lo que muestra una disminución marcada por lo presencia de las algas, quedó un 48,92% del hidrocarburo inicial. Los valores de la mineralización acompañan estos datos.

La presencia de *U. pinnatifida* como biofertilizante produjo una degradación de 51% del hidrocarburo presente mientras que el sistema control fue de 15%. Estos resultados promisorios nos llevan a considerar la posibilidad de utilizar a *Undaria pinnatifida* como biofertilizante para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburo.

**DISEÑO DE UN MEDIO DE CULTIVO DE BAJO COSTO Y OBTENCIÓN DE LIÓFILOS BACTERIANOS APLICABLES AL PROCESO DE BIOFILTRACIÓN DE AGUAS SUBTERRÁNEAS CON Mn(II)**

Lucila Ciancio (1), Micaela Vidoz (1), Ainelén Piazza (1), Cintia Labanca (2),  
Virginia Pacini (2), Jorgelina Ottado (1), Natalia Gottig (1)\*

(1) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Rosario, Argentina. (2)  
Centro de Ingeniería Sanitaria (UNR), Rosario, Argentina  
\*gottig@ibr-conicet.gov.ar

La biofiltración es un proceso ampliamente utilizado para el tratamiento de aguas contaminadas con metales debido a su bajo costo y a que no tiene efectos negativos sobre el medio ambiente. Sin embargo, en algunos casos este tipo de tecnologías presentan limitaciones relacionadas con los largos periodos de puesta en marcha para la remoción del metal. Respecto a la biorremediación de aguas que contienen Mn(II), nuestro equipo de trabajo ha reportado previamente que la inoculación de filtros a escala de laboratorio con la bacteria ambiental *Pseudomonas sagittaria* MOB-181 mejora considerablemente el proceso de remoción del metal. En este trabajo se propone desarrollar una nueva metodología de inoculación basada en el uso de liófilos de la cepa MOB-181 que permita optimizar simultáneamente el tiempo, el costo y la operación del sistema de filtrado.

Cultivos planctónicos y biofilms de la cepa MOB-181 se crecieron en medio Lept y Lept-Mn, donde la bacteria es capaz de formar óxidos de Mn(II) (OxMn). A continuación, los cultivos se liofilizaron y se determinó la tasa de sobrevivencia bacteriana, la cual fue mayor para los biofilms cubiertos con OxMn.

Posteriormente, se diseñaron medios de cultivos a base de residuos de glicerol crudo, un subproducto derivado de la producción del biodiesel. Los mismos se utilizaron para crecer el inóculo bacteriano y luego de analizar el crecimiento de MOB-181, la resistencia al proceso de liofilización y la capacidad de oxidar Mn(II) en cada uno de ellos, se seleccionó el medio Glicerol 1%-Mn para realizar los ensayos de bioaumentación en filtros diseñados a escala de laboratorio. Cabe destacar que los liófilos de MOB-181 obtenidos en este medio conservan la capacidad de adherirse a la arena que se utiliza como manto filtrante del sistema de biofiltración.

Se inocularon filtros con cultivos liofilizados (L) y no liofilizados (NL) de la cepa MOB-181 y diariamente se calcularon las eficiencias de remoción de Mn(II). En paralelo se operó un tercer filtro sin inocular como control. Los resultados obtenidos demostraron que es factible el uso de liófilos bacterianos y que los mismos permiten mejorar la remoción de Mn(II), dado que la eficiencia de remoción óptima en el filtro L se alcanza antes que en el filtro NL.

A modo de conclusión se puede decir que la estrategia de inoculación desarrollada en este trabajo representa una alternativa eficaz y económica para optimizar el proceso de biofiltración aplicado a la biorremediación de Mn(II) y además posee el valor agregado de reutilizar desechos industriales, convirtiéndola en una metodología afín con el cuidado del medio ambiente.

## RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE USO FRECUENTE EN BACTERIAS INDICADORAS DE CALIDAD DEL AGUA EN PLAYAS DE MAR DEL PLATA (BUENOS AIRES, ARGENTINA)

María Soledad Domínguez (1)\*, Julieta Pérez Guzzi (1), Anabela Ridolfi (1), Virginia D'Arcángelo (1), Valentina Álvarez (1) y Karina Soledad Esquiús (1,2).

(1) Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, FCEyN-CONICET, Mar del Plata, Argentina.

\*soledaddominguez7@gmail.com

La creciente resistencia frente a agentes antimicrobianos (RA) en bacterias patógenas se ha convertido en un importante problema de salud pública. La mayoría de las investigaciones sobre RA se han centrado en entornos clínicos, pero el aumento de la incidencia de infecciones por bacterias resistentes en la población ha impulsado el interés de su estudio en diversos ecosistemas, que actuarían como reservorios de estos microorganismos. Mar del Plata es el centro vacacional estival más importante del país, con playas muy concurridas durante el verano. Como en la mayoría de las ciudades costeras, el desagüe de efluentes pluviales y cloacales, estos últimos previamente tratados, se realiza hacia el mar. Ambos sistemas constituyen fuentes puntuales de microorganismos potencialmente patógenos, tales como *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*. El riesgo sanitario aumenta si se trata de cepas con múltiple RA. El objetivo del presente estudio fue evaluar el patrón de susceptibilidad a antibióticos de uso frecuente en cepas de *E. coli* y *E. faecalis* aisladas de aguas costeras de la ciudad.

Para tal fin, se realizaron muestreos durante marzo de 2021 en tres playas de acceso público: Sun Rider (PSR, próxima a la Planta de Tratamiento de Efluentes Domiciliarios), Constitución (PC, vinculada a una importante descarga de efluentes pluviales) y Waikiki (PW, sin aportes antrópicos directos significativos). En cada playa se tomaron muestras de agua sub-superficial y se registraron datos de temperatura ambiente, cantidad de bañistas, índice UV, nubosidad y viento predominante y se determinaron los principales parámetros físico-químicos del agua. A partir de las muestras se realizaron los aislamientos y la caracterización bioquímica confirmatoria correspondiente, obteniendo un total de 32 cepas (17 de *E. coli* y 15 de *E. faecalis*) y se determinó la susceptibilidad frente a antimicrobianos de uso frecuente (CEF, TMS, CMP, GEN, NOR, CIP, AKN, CLI, ERY, RIF y TET) por el método de difusión en agar según Bauer Kirby.

El 70,6 % de las cepas de *E. coli* mostró resistencia a sólo uno de los antibióticos testeados (CEF), resultando sensibles al resto. Todas las cepas de *E. faecalis* aisladas presentaron multiresistencia, con resistencia al menos a tres de los antibióticos testeados. Tanto el número de cepas resistentes como la diversidad de patrones de susceptibilidad registrados aumentaron de sur a norte (PW<PC<PSR). Dado que el ingreso de bacterias resistentes desde fuentes terrestres es un mecanismo para la aparición de RA en ambientes marinos, puede inferirse el efecto antrópico sobre la secuencia detectada.

Se concluye que resulta de crucial interés sanitario implementar evaluaciones profundas y sistemáticas de la RA en aguas recreacionales marplatenses. El uso de bacterias con RA marcadoras de contaminación y el estudio de su diseminación en estos ambientes contribuirá en la ponderación del riesgo para la salud pública permitiendo gestionar a tiempo las medidas adecuadas.

## CARACTERIZACIÓN DE CAROTENOIDES PRODUCIDOS POR BACTERIAS AISLADAS DEL SALAR DEL HOMBRE MUERTO

Marta Florencia Lopez (1,2), Rita Victoria Wierna (1,3), Norberto Bonini (1,3), Verónica Beatriz Rajal (1,2), Verónica Patricia Irazusta\* (1,4).

(1) INIQUI, Universidad Nacional de Salta (UNSa), CONICET, Salta, Argentina. (2) Facultad de Ingeniería-UNSa. (3) Facultad de Ciencias Exactas-UNSa. (4) Facultad de Ciencias Naturales-UNSa.

\*irazustaveronica@gmail.com

Los carotenoides son pigmentos tetraterpenoides de origen natural, que consisten en una cadena poliénica con dobles enlaces conjugados y en algunos en un anillo hidrocarbonado terminal. Son responsables de una variedad de colores entre el rojo y el amarillo pálido, que se ven en la naturaleza. Estos pigmentos se producen tanto en plantas como en diferentes microorganismos, incluyendo aquellos halófilos y/o halotolerantes y han recibido atención considerable debido a sus interesantes aplicaciones y, sobre todo, por sus posibles efectos beneficiosos sobre la salud humana, ya que actúan como antioxidantes protegiendo las células de los daños oxidativos al neutralizar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. El objetivo de este trabajo fue caracterizar, mediante análisis por espectrofotómetro UV-Vis, cromatografía de capa fina (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD), los carotenoides producidos por bacterias halotolerantes aisladas del Salar del Hombre Muerto, Catamarca.

Se seleccionaron para este estudio dos cepas bacterianas de color amarillo y una naranja (consistentes con la presencia de carotenoides), aisladas del Salar del Hombre Muerto. Las cepas se identificaron mediante la secuenciación del fragmento 16S del ADNr como *Kocuria palustris* M9, *Micrococcus luteus* SA211 y *Kocuria rosea* SA129B. Se siguieron tres etapas. En la primera, se determinaron las condiciones de crecimiento celular de las bacterias para la producción de carotenoides en medios de cultivo con y sin el agregado de NaCl. En la segunda, se desarrolló una metodología adecuada para la extracción de los carotenoides producidos. Finalmente, en la tercera, se caracterizaron los pigmentos aislados mediante: a) cromatografía frente a algunos patrones de estructura conocida ( $\beta$ -caroteno, luteína, zeaxantina, capsantina y violaxantina), b) pruebas químicas destinadas a evaluar la presencia de diferentes grupos funcionales presentes en la estructura, tales como epóxidos, y c) espectros UV-Vis de los extractos de pigmentos purificados y su comparación con los existentes en bibliografía. En esta última etapa se estudió el desarrollo de los pigmentos sobre cromatoplasmas de SiO<sub>2</sub> mediante TLC, empleando mezclas de solventes de distinta polaridad, y su resolución mediante HPLC-DAD, empleando una columna de C18.

A partir de los resultados del análisis cromatográfico, de las pruebas químicas de caracterización y del perfil de los espectros UV-Vis de los pigmentos producidos por cada una de las cepas y de su comparación con los informados en bibliografía, se propone que, el carotenoide principal en la cepa *Kocuria palustris* M9 es el neurosporeno, en *Kocuria rosea* SA129b es la astaxantina, mientras que en *Micrococcus luteus* SA211 es la sarcinaxantina. Todos estos carotenoides son interesantes por sus posibles aplicaciones tanto en medicina como en la industria de la cosmética.

## PRODUCCIÓN DE EXTRACTOS ENRIQUECIDOS EN ÁCIDO GÁLICO MEDIANTE FERMENTACIÓN FÚNGICA EN ESTADO SÓLIDO SOBRE DESECHOS AGROINDUSTRIALES

María Rocío Meini (1,2,3)\*, Ignacio Cabezudo (2,3), Cecilia S. Galetto (3), Natasha Melnichuk (1,2,3), Diana Romanini (1,2,3)

(1) Instituto de Procesos Biotecnológicos y Químicos (IPROBYQ). (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). (3) Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario (UNR), Rosario, Argentina.

\*meini@iprobyq-conicet.gob.ar

La gran cantidad de residuos orgánicos producidos durante las actividades agroindustriales representan una preocupación ambiental. Los enfoques de biorrefinería permiten generar valor adicional de estas actividades y reducir el volumen y la carga de contaminación de los residuos. En el presente trabajo empleamos dos residuos agroindustriales de relevancia regional y mundial, el orujo de uva y la cascarilla de soja. Estos residuos son recalcitrantes a la degradación por su alto contenido lignocelulósico, mientras que a su vez contienen una alta proporción de polifenoles retenidos, muchos de los cuales presentan bioactividades que pueden ser aprovechadas en diversas aplicaciones. Entre ellos se destaca el ácido gálico, el cual posee muchas propiedades terapéuticas potenciales, incluyendo propiedades anticancerígenas y antimicrobianas.

Los residuos mencionados se utilizaron como sustrato y soporte para la fermentación en estado sólido de hongos de dos especies diferentes, *Aspergillus niger* y *Aspergillus oryzae*, con el objetivo de producir enzimas que permitan degradar la matriz lignocelulósica y así liberar polifenoles de interés. Se obtuvieron altos rendimientos de producción de las enzimas  $\alpha$ -amilasa, celulasa y pectinasa variando las condiciones del soporte y el sustrato. En el caso de *A. niger*, la adición de orujo de uva y del inductor de enzima tanasa ácido tánico, redujo la producción de esas enzimas, mientras que favoreció la producción de tanasa y la liberación de polifenoles con capacidad antioxidante. En el caso de *A. oryzae*, la cascarilla de soja favoreció la producción de enzima  $\alpha$ -amilasa, pero también se detectó la liberación de polifenoles.

Se encontró que los extractos polifenólicos obtenidos luego de la fermentación presentaban una actividad antioxidante aumentada respecto al control. La composición de los extractos se analizó mediante HPLC y TLC, demostrando estar enriquecidos en ácido gálico. Se realizaron distintos revelados mediante bioautografía posterior a la resolución mediante TLC, incluyendo la detección mediante actividad antioxidante y mediante actividad anti-tirosinasa. Se encontró que el ácido gálico es mayormente el responsable de la actividad antioxidante del extracto y se encontró una actividad anti-tirosinasa considerable. Estas bioactividades encontradas permiten proponer el empleo de estos extractos para aplicaciones en cosmética y en productos alimenticios.

## AISLAMIENTO DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE ENZIMAS AMILOLÍTICAS CON APLICACIÓN EN PROCESOS BIOCATALÍTICOS DE TRANSFORMACIÓN DE $\alpha$ -GLUCANOS

Julietta de las Mercedes Castillo (1,2), Soledad Caminata Landriel (1), Hernán Costa (1,2) \*

(1) Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján (UNLu), Luján, Argentina.

(2) INEDES-CONICET-UNLu, Luján, Argentina.

\*hcosta@unlu.edu.ar

La bioprospección es un método que permite explorar la biodiversidad de un determinado lugar con el propósito de identificar atributos funcionales de interés para el desarrollo de productos o procesos. Los microorganismos son ampliamente utilizados como fuentes de enzimas. El almidón es el principal polisacárido de reserva vegetal. Está formado por dos polímeros de glucosa, la amilosa y la amilopectina. En ambos casos, los residuos de glucosa están unidos entre sí mediante enlaces  $\alpha$ -1,4 y la amilopectina además posee ramificaciones  $\alpha$ -1,6. Las enzimas capaces de transformar el almidón en condiciones alcalinas presentan particular interés en las industrias química (detergentes), alimentaria, papelería y textil, entre otras. Las CGTasas transforman el almidón en mezclas de oligosacáridos cíclicos, ciclodextrinas (CD). Las tres principales CD poseen 6, 7 u 8 unidades de glucosa y se denominan  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -CD, respectivamente. Según el tipo principal de CD producida, las CGTasas se clasifican en  $\alpha$ -  $\beta$ - y  $\gamma$ -CGTasas. El pululano es un glucano  $\alpha$ -1,4 y  $\alpha$ -1,6 formado por unidades de maltotriosa. Las pululanasa hidrolizan las uniones  $\alpha$ -1,6 del pululano generando maltotriosa y se clasifican en tipo I y II, según su modo de acción y los productos obtenidos luego de la hidrólisis de diversos  $\alpha$ -glucanos. Las Amilasas Formadoras de Maltooligosacáridos (MFAsas) producen un tipo principal de maltooligosacáridos (MOS) luego de la hidrólisis del almidón. El objetivo de este trabajo fue el aislamiento de bacterias aerobias con el fin de obtener enzimas amilolíticas de interés biotecnológico.

Se realizó la bioprospección de distintos nichos inoculando las muestras en medio de inducción peptonado (MIP) sólido con almidón como principal fuente de carbono. Los halos de hidrólisis obtenidos alrededor de las unidades formadoras de colonias fueron utilizados como fuente enzimática para estudiar por HPLC los productos obtenidos por la bioconversión de almidón. Para la identificación de los aislamientos productores de pululanasa se empleó un segundo tamizaje en MIP sólido con pululano como principal fuente de carbono. Se obtuvieron alrededor de 170 aislamientos de bacterias productoras de enzimas amilolíticas, identificadas mediante pruebas bioquímicas y análisis del gen ARNr 16S. De los aislamientos, 21 producen CGTasas, y pertenecen principalmente al género *Bacillus*, 22 secretan pululanasa, predominando los géneros *Aeromonas*, *Bacillus* y *Micrococcus* y alrededor de 55 producen MFAsas con distinta especificidad de producto, siendo *Bacillus* el principal género.

Mediante bioprospección se obtuvo un amplio número de aislamientos bacterianos productores de diversas glucósido-hidrolasas: pululanasa, CGTasas y MFAsas. Específicamente, una  $\beta$ -CGTasa secretada por *Alkalihalobacillus lehensis* y una pululanasa de tipo I aislada de *Exiguobacterium alkaliphilum* resultan de interés por su potencial aplicación en bioprocesos de transformación del almidón en condiciones alcalinas.

## AMEBAS DE VIDA LIBRE EN HUMEDALES COSTEROS Y CONTINENTALES DE USO RECREATIVO DEL SUDESTE BONAERENSE

Loriana Tomassini (1, 2, 4)\*, María Soledad Dominguez (2), Karina Soledad Esquius (2, 3),  
Viviana Rosa Randazzo (4)

(1) Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil Don Victorio Tetamanti, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina (2) Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina (3) Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, IIMyC- Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, CONICET (4) Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina

\*ltomassini@mdp.edu.ar

Las amebas de vida libre (AVL), son protistas de amplia distribución en la naturaleza y tienen a los cuerpos de agua como nichos ecológicos usuales. Existen cuatro géneros de AVL potencialmente patogénicos para el ser humano: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia*, y *Sappinia* y si bien las patologías que producen son poco frecuentes, resultan graves y con elevada morbimortalidad. Los géneros *Acanthamoeba* sp., y *Naegleia* sp. son bioindicadores ambientales pudiendo actuar de reservorio de microorganismos potencialmente patógenos. Si bien la presencia de AVL en el agua implica un riesgo sanitario y ambiental, en la actualidad existen escasos reportes epidemiológicos acerca de la presencia de estos protozoos en Argentina.

En este contexto, y en el marco de un amplio proyecto de investigación, el objetivo del presente trabajo es la búsqueda e identificación de AVL de importancia sanitaria en humedales (costeros y continentales) del sudeste bonaerense, usados habitualmente con fines recreativos. Desde febrero a junio de 2021, se recolectaron 14 muestras de humedales continentales (lagunas La Brava, de Los Padres, Parque Lago y Parque Lago Camet) y costeros (playas Waikiki, Sun Rider, Constitución y Puerto). En cada sitio muestreado se registraron temperatura, pH, conductividad eléctrica y turbidez de la columna de agua. Se realizaron cultivos para AVL, estudios bacteriológicos y determinación de materia orgánica. Para la investigación de AVL las muestras fueron sembradas en placas de Agar no nutritivo suplementado con *Escherichia coli* en solución de Page, incubadas en estufas a 37 °C y 42 °C garantizando la recuperación de especies termófilas. Se realizaron observaciones microscópicas e identificaciones en base a caracteres morfológicos de las especies halladas, se conservaron los aislamientos para su posterior identificación molecular.

Los resultados mostraron que el 100 % de las muestras de agua dulce y el 50 % de las muestras de agua salada cultivadas fueron positivas para AVL, con aislamientos morfológicamente compatibles con *Acanthamoeba*. Las muestras incubadas a 42 °C resultaron negativas, se descartó la presencia de *Naegleria* sp. En cuanto a los parámetros físico-químicos de los diferentes humedales la temperatura varió entre 6 y 22 °C, el pH entre 6,78 y 9,61 y la conductividad eléctrica entre 740 y 7800  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Los valores de turbidez y composición de materia orgánica en las muestras, se correlacionaron directamente con los recuentos históricos de coliformes totales (11 y 210 NMP/100ml) y enterococos fecales (17 y 1608 NMP/100ml) obtenidos. Los resultados destacan la presencia y preocupante distribución, versatilidad y adaptabilidad de las AVL a humedales costeros y continentales en diferentes condiciones físico-químicas y bacteriológicas. La profundización en el conocimiento de esta econosis y su sociabilización son herramientas fundamentales para emprender acciones de prevención sobre el riesgo sanitario de las mismas.

**DAÑO HISTOPATOLÓGICO DE CAMARÓN *Penaeus vannamei* ALIMENTADO CON UNA FORMULACIÓN SUPLEMENTADA CON NEJAYOTE Y EXPUESTO A DL<sub>50</sub> DE *Vibrio parahaemolyticus***

Sergio Gámez-Bayardo (1), Esaú López-López (1), Gloria Marisol Castañeda-Ruelas (1), Francisco Javier Valdez-González (2), Maribel Jiménez-Edeza (1)\*

(1) Posgrado Integral de Biotecnología. Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Microbiológico. Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. (2) Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera. Laboratorio de Biotecnología y Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nayarit. San Blas, Nayarit, México.

\*mjimeneze@uas.edu.mx

El incremento de enfermedades en camarón *Penaeus vannamei* durante su producción ha provocado importantes pérdidas económicas, y el uso indiscriminado de antibióticos ha favorecido esta situación. Por ello, se ha propuesto el uso de inmunoestimulantes en formulaciones de alimento para camarón con el fin de mejorar su respuesta ante enfermedades. El nejayote es un subproducto descartado de la nixtamalización del maíz y posee un perfil de fitoquímicos con alta capacidad antioxidante. Es por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el daño histopatológico de los camarones alimentados con formulaciones de alimento suplementadas con nejayote y expuestos a una dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de *Vibrio parahaemolyticus*.

Se realizó un bioensayo por 45 días con 12 peceras y 12 organismos en cada una. Se emplearon cuatro estrategias de alimentación: I) formulación suplementada con nejayote (FSN) al 4 % p/p; II) FSN al 7 % p/p; III) FSN al 10 % p/p y IV) formulación sin nejayote. Se realizó monitoreo fisicoquímico (pH, salinidad, oxígeno disuelto (OD) y temperatura), microbiológico y parámetros biométricos (peso y talla) para la determinación del factor de conversión alimenticia (FCA). Posterior a los 45 días de administración de las formulaciones suplementadas con nejayote, los organismos fueron sometidos a un proceso de infección vía intramuscular. Se emplearon tres tratamientos de infección: a) 30 µL de DL<sub>50</sub> de *Vibrio parahaemolyticus* ( $3.8 \times 10^5$  UFC/mL); b) 30 µL de solución amortiguadora de fosfatos 1X (PBS 1X) y c) organismos control sin inyección. Se realizaron evaluaciones histopatológicas en tres periodos de tiempo (0, 3 y 6 h) en distintos tejidos del camarón y se determinó el porcentaje de sobrevivencia. Un análisis de varianza (ANOVA) de una vía fue realizado. Se observaron condiciones óptimas para las evaluaciones fisicoquímicas de pH ( $7.17 \pm 0.22$ ), salinidad ( $40.25 \pm 1.42$  g/L), OD ( $5.11 \pm 0.51$  mg/L), y temperatura ( $28.24 \pm 0.31$  °C). La microbiota marina se mantuvo en  $2.75 \pm 2.15$  log UFC/mL, asegurando un entorno seguro de crecimiento para los organismos. El FCA mostró valores de  $1.94 \pm 0.03$ ,  $1.89 \pm 0.01$ ,  $1.89 \pm 0.04$  y  $1.91 \pm 0.04$  para las estrategias de alimentación I, II, III y IV, respectivamente. El daño histopatológico mostró diferencias significativas en función al tratamiento de infección y al tiempo de evaluación en las distintas estrategias de alimentación ( $P \leq 0.05$ ). El mayor daño se observó en el tejido del hepatopáncreas cuando el tratamiento a) fue administrado en comparación a los tratamientos restantes (b y c) ( $P \leq 0.05$ ) con una sobrevivencia del 100% en el bioensayo.

La mejora de la respuesta fisiológica en los organismos mediante la dieta suplementada con nejayote es una estrategia que no genera estrés, y promueve el uso de un subproducto económico con alto potencial biotecnológico. Se sugiere el uso de técnicas moleculares que cuantifiquen la respuesta en el sistema inmune del camarón alimentado con una dieta suplementada de nejayote.

**RESPUESTA CELULAR DE CAMARÓN *Penaeus vannamei* ALIMENTADO CON UNA FORMULACIÓN SUPLEMENTADA CON NEJAYOTE Y EXPUESTO A UNA DL<sub>50</sub> DE *Vibrio parahaemolyticus***

Esau López-López (1), Sergio Gámez-Bayardo (1), Gloria Marisol Castañeda-Ruelas (1), Francisco Javier Valdez-González (2), José Geovanni Romero Quintana (3), Maribel Jiménez-Edeza (1)\*

(1) Posgrado Integral en Biotecnología. Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Microbiológico. Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. (2) Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera. Laboratorio de Biotecnología y Nutrición Acuicola. Universidad Autónoma de Nayarit. San Blas, Nayarit, México. (3) Posgrado Integral en Biotecnología. Laboratorio de Inmunología. Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.

\*mjimeneze@uas.edu.mx

La acuicultura se ha visto afectada por diversas enfermedades bacterianas que causan mortalidades masivas y debido al uso indiscriminado de los antibióticos, se ha favorecido esta situación. En este contexto, la implementación de estrategias que reemplacen el uso de los antibióticos ha generado interés. Una de ellas es la inmunoestimulación a través de la alimentación de los organismos. El nejayote es un subproducto de la nixtamalización que contiene altas concentraciones de compuestos bioactivos, cuyas propiedades poseen potencial biotecnológico.

En la búsqueda de promover el bienestar de los organismos sin comprometer el medio ambiente, el objetivo de este trabajo fue la evaluación de la respuesta celular de *Penaeus vannamei* alimentado con una formulación suplementada con nejayote ante la infección de una dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de *Vibrio parahaemolyticus*. Se realizó un bioensayo por 45 días con 12 peceras y 12 organismos en cada una. Se emplearon dos estrategias de alimentación: I) Formulación suplementada con nejayote al 4 % p/p; II) Formulación sin nejayote. Se realizó monitoreo fisicoquímico (pH, salinidad, oxígeno disuelto (OD) y temperatura), microbiológico y una evaluación de peso y talla para la determinación del factor de conversión alimenticia (FCA). Posterior a los 45 días de administración de las formulaciones suplementadas con nejayote, los organismos fueron sometidos a un proceso de infección vía intramuscular. Se emplearon tres tratamientos de infección: a) 30 µL de DL<sub>50</sub> de *Vibrio parahaemolyticus* ( $3.8 \times 10^5$  UFC/mL); b) 30 µL de solución amortiguadora de fosfatos 1X (PBS 1X) y c) organismos control sin inyección. Se realizaron evaluaciones de conteo de hemocitos en tres periodos de tiempo (0, 3 y 6 h) y se determinó la viabilidad de las células cuantificadas en hemolinfa. Un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y una correlación de Pearson fue realizado.

En la evaluación fisicoquímica se observaron condiciones óptimas de pH ( $7.11 \pm 0.22$ ), salinidad ( $40.66 \pm 1.21$  g/L), OD ( $5.37 \pm 0.46$  mg/L), y temperatura ( $28.07 \pm 0.28$  °C). La microbiota se mantuvo en  $2.77 \pm 2.27$  log UFC/mL. El FCA mostró valores de  $1.94 \pm 0.03$  y  $1.91 \pm 0.04$  en I y II, respectivamente. El porcentaje de hemocitos vivos y muertos fue de 74.32% y 25.81% respectivamente. El efecto de la estrategia de alimentación fue significativamente diferente en el conteo de hemocitos vivos (CHV) ( $P \leq 0.05$ ) y sin efecto en el conteo de hemocitos muertos (CHM) y en el conteo de hemocitos totales (CHT) ( $P > 0.05$ ). El análisis de correlación mostró que el CHV, CHM y CHT depende de la estrategia de alimentación y el tratamiento de infección.

La mejora de la respuesta celular en los organismos mediante el suplemento de nejayote a través de la alimentación no genera estrés y promueve el uso de un subproducto económico con alto potencial biotecnológico. Son necesarias técnicas moleculares para cuantificar genes de respuesta inmunológica del camarón alimentado con una dieta suplementada de nejayote.

## SEGUIMIENTO POR FT-IR DE UNA COMUNIDAD BACTERIANA QUE ESTUVO BAJO CAMPO ELÉCTRICO

Romina Diaz (1)\*, Adrián Acuña (2), Graciela Pucci (1)

(1) Centro de Estudios e Investigación en Microbiología Aplicada, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia, Argentina. (2) Universidad Tecnológica Nacional, Regional Santa Cruz, Río Gallegos, Argentina.

\*romina.a.diaz@hotmail.com

La electrobiorremediación es una técnica que se está estudiando para mejorar la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. La aplicación de un campo eléctrico genera migraciones de las especies cargadas y de los microorganismos modificando las relaciones de C:N:P. Resulta de importancia conocer la migración de los iones y las modificaciones en el pH. Una forma rápida y económica de observar diferencias generales de las comunidades bacterianas es la realización de espectros de infrarrojo y el análisis de las regiones. Este se divide en cinco ventanas: (I) lípidos ( $3000-2800\text{ cm}^{-1}$ ); (II) proteínas y péptidos ( $1800-1500\text{ cm}^{-1}$ ); (III) una región mixta ( $1500-1200\text{ cm}^{-1}$ , con información de proteínas, ácidos grasos y compuestos portadores de fosfato); (IV) polisacáridos ( $1200-900\text{ cm}^{-1}$ ); y (V) una región de huellas dactilares ( $900-700\text{ cm}^{-1}$ , que muestra algunos patrones espectrales notablemente específicos aún no asignados a componentes celulares o grupos funcionales). El objetivo de este trabajo fue realizar un seguimiento de los movimientos de las comunidades bacterianas del suelo, mientras son sometidas a un campo eléctrico por desarrollo en caldo de tripteína soya y analizado mediante FT-IR.

Se utilizaron dos cubas electroquímicas de vidrio de 27 cm de largo con electrodos de platino conectados a un buffer de fosfato sólido en contacto con el suelo, al que se le aplicó un voltaje de 15-17 V. A los 30 días se tomaron muestras del ánodo, centro y cátodo de las cubas. Se realizaron recuentos bacterianos en medios R2A y MBM (medio base mineral adicionado con una mezcla de petróleo y gasoil), y análisis químico de nutrientes. Se realizó una suspensión de 1 g de suelo en 10 ml de caldo tripteína soya y se incubó a  $28^{\circ}\text{C}$  durante 24 h. Luego se centrifugó y lavó en tres ocasiones con NaCl (0.9%). El pellet del cultivo se analizó utilizando el espectro FT-IR entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  y  $500\text{ cm}^{-1}$ . En cada espectro se recopilieron 64 exploraciones con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Los datos se analizaron por componentes principales (PCA) utilizando el programa PAS.

En el análisis, la mayoría de las comunidades bacterianas capaces de crecer en medio líquido evidenciaron un número similar de recuento bacteriano, así como condiciones químicas semejantes en concentraciones de fosfatos, nitratos y conductividad. Una de las muestras analizadas arrojó resultados diferentes de las mencionadas anteriormente, lo que podría indicar la presencia de una comunidad que soporta cambios de pH. Por este motivo se tuvo que realizar rotación de cátodo/ánodo en tres ocasiones con el fin de mantener el pH en valores compatibles con la vida. Los recuentos bacterianos disminuyeron en ambas cubas en la región central y en el extremo que más tiempo permaneció como ánodo. El análisis químico demostró la migración de nitrato y fosfato en ambas cubas.

## COMUNIDADES MICROBIANAS EN MICROPLÁSTICOS CONTAMINANTES EN EL ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA

Ana Forero-López (1), Lorena Brugnoni (2)\*, Florencia Biancalana (1),  
Melisa Fernández-Severini (1)

(1) Instituto Argentino de Oceanografía (IADO/CONICET-UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur, (INBIOSUR/CONICET-UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

\*brugnoni@uns.edu.ar

La superficie de los microplásticos (MPs) presentes en el medio acuático proporciona un entorno ideal para la formación de biofilms por parte de especies potencialmente patógenas como *Vibrio* spp. y bacterias multiresistentes a los antibióticos, como *Escherichia coli*. Además, diatomeas, hongos, bacterias marinas y *Pseudomonas* spp. se encuentran también presentes. El conocimiento de la composición de esta microbiota asociada a los MPs es relevante a fin de establecer acciones que limiten el riesgo para la salud humana, así como para ampliar el estudio sobre los microorganismos que participan en su biodegradación, incorporándose a los ciclos biogeoquímicos y cadenas tróficas.

Para tal fin, se realizaron ensayos *in situ* desde Febrero hasta Abril del 2021 en una estación costera fija (Puerto Cuatreros) localizada en la zona interna del Estuario de Bahía Blanca, donde se ubicaron 26 dispositivos cada uno de los cuales contenía en su interior 300 esferas de poliestireno y 40 discos de nylon. La temperatura varió entre los 11,4 y los 23,3 C°, la salinidad entre 29,05 y 53,60, mientras que el pH entre 6,8 y 8,3. Los valores de oxígeno disuelto oscilaron entre 7,0 y 8,9 mg/L. Cuatro dispositivos fueron retirados cada 15 días en un total de 6 muestreos. La observación cualitativa de la biota asociada a ambos tipos de MPs se realizó mediante microscopía de epifluorescencia utilizando distintas tinciones. El análisis microbiológico se realizó en medios de cultivo específicos para la búsqueda de *E. coli*, *Vibrio* spp., *Pseudomonas* del grupo fluorescente, recuento de bacterias coliformes, heterótrofas y hongos.

El recuento de bacterias heterótrofas, coliformes totales y *Pseudomonas* del grupo fluorescente no se modificó a lo largo del ensayo y se estableció la presencia de *E. coli* y colonias típicas de *Vibrio* spp. en todas las muestras, sin observarse diferencias significativas en el análisis según el tipo de MP. El recuento de hongos se incrementó de  $1 \times 10^2$  Unidades Formadoras de Colonias/g de MPs hasta  $4 \times 10^5$  UFC/g, aumentando significativamente el número de levaduras de los géneros *Rhodotorula* y *Candida* hacia el final del ensayo. En el análisis cualitativo se identificaron los siguientes grupos: hongos filamentosos (estructuras fúngicas: Zoosporas e hifas), diatomeas, radiolarios, nematodos y amebas, los cuales se hallaron formando agregados con partículas orgánicas e inorgánicas en conglomerados asociados y adheridos, encontrándose ciertas diferencias en la conformación del biofilm según el tipo de MP.

Tanto bacterias, hongos filamentosos como diatomeas participan en procesos de degradación de polímeros naturales debido a su gran potencial metabólico y capacidad de degradar estructuras recalcitrantes, siendo potenciales degradadores de MPs. Por otro lado, la presencia de *Vibrio* spp. y *E. coli* supone un riesgo ya que se sabe del potencial de los MPs como sustratos de adhesión y vectores de dispersión de estos microorganismos.

## ANÁLISIS METAGENÓMICO 16S COMPARATIVO DEL COMPOST DE DOS LECHERÍAS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

Antonela Marozzi (1)\*, Juan Leandro Monge (2), Diego Sauka (3),  
Cecilia Peralta (4), Leopoldo Palma (2,4).

(1) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Bariloche, Argentina. (2) Universidad Nacional de Villa María (UNVM), Villa María, Argentina. (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Hurlingham, Argentina. (4) Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB), Villa María, Argentina.

\*antomarozzi@gmail.com

El compostaje permite convertir residuos orgánicos a inorgánicos asimilables para las plantas por la acción de un consorcio microbiológico de organismos mesófilos y termófilos. La identificación de sus componentes es importante para la caracterización de nuevas bacterias y enzimas termoestables que podrían aplicarse en la industria para la degradación de la biomasa. El objetivo de este trabajo es comparar la comunidad microbiana de las camas de compost (CC) de dos lecherías de la provincia de Córdoba mediante secuenciación metagenómica 16s e inferir diferencias según cada sistema de compostaje. Las dos lecherías (MB y AT) se muestrearon en julio de 2019. MB tenía 30 meses desde su inicio, piso de concreto en el área donde la vaca para a alimentarse, y una carga (CA) de 14,5 vacas/m<sup>2</sup> sobre área de la cama. La cama de compost MB se inició sobre el suelo natural, siempre ha sido laboreada con cincel en profundidad dos veces por día y sin adición de sustrato. La cama AT tenía 20 meses desde su inicio, no cuenta con piso de concreto donde la vaca se alimenta (establo 100% cama) y la carga era de 13,75 vacas/ m<sup>2</sup>. AT inició con 40 cm de cáscara de maní, y luego se continuó adicionando para mantenimiento con laboreo siempre a cincel más rotocultivador a razón de dos veces por día. Se recogieron dos muestras por lechería a 30 cm de profundidad, se liofilizaron y homogeneizaron con un desintegrador universal de alta velocidad (modelo FW100). El ADN total se purificó con el kit PureLink Microbiome (ThermoFisher) y se secuenció en INDEAR (Rosario, Santa Fe). Las lecturas crudas Illumina se filtraron eliminando duplicaciones y lecturas quiméricas. El análisis metagenómico se realizó utilizando el pipeline QIIME (<http://qiime.org/>).

Las curvas de rarefacción obtenidas en los dos tratamientos alcanzaron sus asíntotas, por tanto, las unidades taxonómicas operativas (OTUs) observadas son representativas del conjunto de la diversidad bacteriana. La biodiversidad filogenética (PD) es levemente mayor en MB, aunque el índice de diversidad de Shannon indicó un 97% de similitud entre los tratamientos. Los phyla predominantes en ambos tratamientos fueron Actinobacteria, Proteobacteria y Bacteroidetes. Se observaron diferencias en los phyla Planctomicetes, (AT = 0,2% y MB = 7%), y Firmicutes, (AT entre 11 y 18% y MB 24%). Algunos géneros que podrían jugar un papel importante en la degradación de la biomasa son *Clostridium*, *Symbiobacterium*, *Thermobacter*, *Geobacillus*, *Bacillus*, *Ureibacillus*, *Theropolyspora*, *Thermobispora*, *Thermospora*. De éstos, en las muestras analizadas se identificaron *Clostridium* (aproximadamente 7% en AT y 1% en MB) y *Bacillus* que sólo se identificó en AT con una frecuencia de 1,3%. Nuestros resultados indican que hay diferencias entre los tratamientos. Si bien AT llevó un menor tiempo de compostaje se identificó una mayor frecuencia de géneros de interés y que posiblemente este tratamiento, sea más eficiente en la degradación de materia orgánica.

## CULTIVO DE UN CONSORCIO CON ACTIVIDAD NITRIFICANTE A PARTIR DE SUELOS PROVENIENTES DE UN ECOSISTEMA ÁRIDO PATAGÓNICO IRRIGADOS CON EFLUENTES PESQUEROS SALINOS

María Belén Vallejos\*, Magali Silvina Marcos, Nelda Lila Olivera.

Instituto Patagónico para el Estudio de los Ecosistemas Continentales, Puerto Madryn, Argentina.

\*mvallejos@cenpat-conicet.gob.ar.

La reutilización de efluentes pesqueros para el riego de suelos es una alternativa interesante en zonas áridas; sin embargo, estos efluentes muchas veces presentan una elevada salinidad, que podría causar efectos negativos sobre la microbiota del suelo. En particular, es aún poco claro cómo dicha salinidad podría afectar a los microorganismos nitrificantes del suelo, que en muchos casos han demostrado disminuir su actividad en respuesta al aumento de la salinidad. En un estudio previo en ensayos de microcosmos, suelos de un ecosistema árido patagónico fueron regados con un efluente pesquero salino (6 mS/cm) durante 16 semanas. El objetivo del presente trabajo fue cultivar y caracterizar el consorcio de microorganismos nitrificantes a partir de dichos suelos irrigados con efluentes pesqueros salinos.

Se realizó una suspensión (aproximadamente 0,1 % p/v) del suelo de los microcosmos irrigados con efluentes pesqueros en un medio de cultivo mineral líquido (LMA, pH 8) con sulfato de amonio [3,8 mM] y bicarbonato de calcio [1,5 mM] como fuentes de nitrógeno y carbono, respectivamente; y HEPES (20 mM) como regulador de pH. A partir de esta suspensión se prepararon diluciones decimales seriadas, por triplicado. Los tubos fueron incubados en oscuridad, a 25°C y 200 rpm durante 2 meses. Periódicamente, se evaluó la producción de  $\text{NO}_2^-$  como indicador de la presencia de bacterias oxidadoras de amoníaco y se calculó su Número Más Probable (NMP). Durante el período de incubación, se repicaron tubos donde se registró producción de  $\text{NO}_2^-$  a medio LMA sin HEPES (con el fin de inhibir microorganismos heterótrofos que podrían crecer utilizando dicha molécula), y se incubó en las condiciones antes mencionadas. Luego, se seleccionó uno de los cultivos sin HEPES y con intensa producción  $\text{NO}_2^-$  para utilizarlo como inóculo de nuevos cultivos, a partir de los cuales se cuantificaron las concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  durante 18 días de incubación (25°C, 200 rpm). Los cultivos se realizaron por triplicado y la tasa de nitrificación neta del consorcio se calculó como el cambio en la concentración de  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  en función del tiempo.

Al término de 2 meses de incubación, el NMP de microorganismos con actividad oxidadora de amoníaco fue de  $1,2 \times 10^7/100$  ml suspensión de suelo. El consorcio microbiano redujo la concentración promedio de  $\text{NH}_4^+$  desde  $6,5 \pm 0,25$  a  $<0,01$  mM luego de 18 días de incubación, y como resultado de la actividad nitrificante aumentó la concentración de  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  desde  $<0,01$  a  $6,9 \pm 0,5$  mM. La tasa de nitrificación neta fue de  $17,5 \pm 1,3$  mg de  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^- \text{ l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . En conclusión, el proceso de cultivo permitió obtener un consorcio microbiano nativo de suelos patagónicos que demostró ser tolerante a la salinidad y efectivo para la oxidación de importantes niveles de amonio.

## DETECCIÓN DE SARS-COV-2 EN EL RÍO MOJOTORO CON USO RECREACIONAL EN LA PROVINCIA DE SALTA

Sarita Isabel Reyes (1), María del Milagro Said-Adamo (1,2), María Noel Maidana Kulesza (1), Mercedes Cecilia Cruz (1), Héctor Antonio Cristóbal (1,2), Verónica Beatriz Rajal (1)\*

(1) Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI), Universidad Nacional de Salta (UNSa) – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Salta, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina. (3) Facultad de Ingeniería, UNSa, Salta, Argentina

\*vbrajal@gmail.com

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de partículas virales de SARS-CoV-2 y poliovirus humano (HPyV) en el río Mojotoro (RM), de uso recreativo, ubicado al norte de la Ciudad de Salta. Concomitantemente, se realizó la caracterización y evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica del agua del río. Se muestrearon dos sitios: i) RM-1 que recibe efluentes de una laguna de estabilización de agua residual y ii) RM-2 ubicado a 5 km aguas abajo de la descarga de una planta de tratamiento de líquidos cloacales. Se realizaron 15 campañas de muestreo entre julio y diciembre de 2020, incluyendo el pico circulación de SARS-CoV-2 registrado en la ciudad de Salta en ese año.

En cada evento de recolección de muestras se midió *in situ*: temperatura, pH, conductividad, turbidez y salinidad. Mediante protocolos estándares se determinaron: coliformes totales (CT) y termotolerantes (CTT), aerobios mesófilos totales (AMT), *Escherichia coli* (ECL) y *Enterococcus* spp. (EN). Se recolectaron 20 L de agua que fueron concentradas mediante ultrafiltración (Fx Classix 100, Fresenius Medical Care, Germany) hasta 80 mL finales. La extracción de ácidos nucleicos se realizó empleando un kit comercial (Puro Virus RNA, Productos Bio-Lógicos, Argentina) a partir de 140  $\mu$ L del concentrado. A través de PCR en tiempo real se detectó SARS-CoV-2 mediante el gen N (RT-qPCR), con un límite de detección de  $2.93 \times 10^3$  cg/L y HPyV, como indicador del origen humano de la contaminación fecal. Se empleó el test de Spearman ( $p < 0.05$ ) para indicar correlación entre las variables fisicoquímicas y microbiológicas.

La concentración de ECL excedió el valor límite de 235 UFC/100 mL (establecido por la normativa USEPA-2015 para aguas de uso recreativo) en un 67 y 53% para RM-1 y RM-2, respectivamente. Mientras que, para EN el 80% de las muestras en RM-1 y 33% en RM-2 excedieron el valor límite de 71 UFC/100 mL. Se determinaron correlaciones positivas de CT con CTT y EN estadísticamente significativas en ambos puntos. Las características fisicoquímicas se mantuvieron dentro de los rangos establecidos por la normativa OMS-2006. Se detectó SARS-CoV-2 en un 46.6 y 40.0% de las muestras en RM-1 y RM-2, respectivamente. La máxima concentración fue  $2.92 \times 10^4$  cg/L en RM-1 y  $3.34 \times 10^4$  cg/L en RM-2. En cuanto a HPyV se detectó en un 93.3% de las muestras en RM-1 y un 66% en RM-2.

Los análisis microbiológicos del río Mojotoro demuestran que los puntos RM-1 y RM-2 tienen contaminación debido al impacto de los efluentes cloacales. La presencia de *Enterococcus* sp. y *E. coli* representan un riesgo de infección para la población. En ambos puntos del río Mojotoro se detectó material genético de los virus, SARS-CoV-2 y HPyV; sin embargo, se desconoce su viabilidad y capacidad infectiva en muestras de agua. Cabe mencionar que a la fecha no se han reportado estudios de SARS-CoV-2 viables en aguas superficiales.

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIBIOFILM DE EXTRACTO DE PUERRO SOBRE CEPAS AMBIENTALES DE *Escherichia coli* CON RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS**

María Celeste Pellegrini\*, Alejandra Graciela Ponce

Grupo de Investigación Ingeniería en Alimentos, Instituto de Ciencia y Tecnología de alimentos y ambiente (INCITAA) (CIC-UNMDP), Departamento Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina

\*mpellegrini@mdp.edu.ar

Actualmente se sabe que las partes subutilizadas de diferentes vegetales presentan excelentes propiedades bactericidas, bacteriostáticas e inhibidoras de la formación de biofilm en bacterias como *Escherichia coli*. La resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema mundial creciente por lo que es importante indagar en la búsqueda de compuestos alternativos. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana y anti-biofilm del extracto etanólico de hojas de puerro sobre cepas de *E. coli* resistentes a ampicilina y amoxicilina aisladas de diferentes quintas hortícolas de la ciudad de Mar del Plata.

Con tal fin, se llevó a cabo la deshidratación de hojas de puerro (70 °C) que luego se maceraron por 48 horas en etanol 80 % en una relación 1g hojas deshidratadas/1ml solvente. Se cuantificó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de puerro sobre 10 cepas de *E. coli* con resistencia a amoxicilina y/o ampicilina y sobre *E. coli* ATCC 25922 a partir de la técnica de microdilución. Se cuantificó la inhibición de la producción de biofilm con tinción con cristal violeta por la técnica de microdilución. También, se testeó la posibilidad de sinergia entre el extracto de puerro y los antibióticos amoxicilina y ampicilina. Se obtuvo un extracto etanólico de hojas de puerro que fue rotaevaporado para eliminar el etanol. Luego el extracto se resuspendió en dimetilsulfóxido obteniéndose una concentración de 737.5 mg/ml.

Se observó actividad antimicrobiana del extracto de puerro sobre todas las cepas resistentes de *E. coli* y la ATCC, presentando una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 87.79 mg/ml. El extracto de puerro presentó un 50 % de inhibición sobre la formación de biofilm en todas las cepas de *E. coli* a una concentración de al menos 1/4 de la CIM. La producción de biofilm de las cepas resistentes inclusive se inhibió a concentraciones más bajas que la ATCC (en algunos casos hasta 1/12 CIM) sugiriendo ser más susceptibles al extracto de puerro. No se encontró actividad sinérgica entre el extracto de puerro y los antibióticos estudiados.

Las partes subutilizadas de puerro presentan potencial como alternativa amigable con el medio ambiente para el control de cepas con resistencia a antibióticos.

**CARACTERIZACIÓN DE PECTINA OBTENIDA UTILIZANDO ENZIMAS ANTÁRTICAS**

Brenda Bezus (1)\*, Sebastián Cavalitto (1), Juan Carlos Contreras (2), Ivana Cavello (1)

(1) Laboratorio de Biotecnología de enzimas y Tratamiento de Efluentes (BEyTE), CINDEFI-CONICET-UNLP, La Plata, Argentina. (2) Departamento de Alimentos, Universidad Autónoma de Coahuila (UAdeC), Coahuila, México

\*brendabezus.bb@gmail.com

Las pectinas son heteropolisacáridos complejos presentes en la pared de las células vegetales. Poseen importancia industrial ya que se utilizan como agentes gelificantes en la industria alimenticia, obteniéndose principalmente a partir de cáscaras de cítricos. Si bien se pueden obtener de la manera clásica, utilizando altas temperaturas y medios ácidos, se ha demostrado que las enzimas microbianas ayudan en el proceso extractivo de la pectina a partir de la materia prima, ofreciendo ventajas ecológicas frente a los métodos clásicos. Las enzimas utilizadas para la obtención de pectina suelen ensayarse a temperaturas cercanas a los 50 °C. Las enzimas antárticas, al poseer actividad catalítica a temperaturas más bajas que las enzimas mesófilas, ofrecen la posibilidad de realizar los procesos a temperaturas más bajas.

En este trabajo se obtuvo pectina a partir de cáscara de limón, utilizando un extracto enzimático producido por la levadura antártica *Tausonia pullulans* 8E. La pectina obtenida fue caracterizada. Para obtener la pectina, se incubó la cáscara de limón con 0.115 U ml<sup>-1</sup> de poligalacturonasa en medio acuoso. La extracción se llevó a cabo a 20 °C y 150 rpm, durante 2 horas. Luego de la extracción, se precipitó la pectina extraída con etanol. La concentración de ácidos urónicos y ácidos neutros se determinó mediante técnicas colorimétricas. La composición de la pectina y el porcentaje de esterificación se analizaron mediante análisis de espectroscopía infrarroja (FTIR-ATR). La densidad de carga y composición de la pectina se analizó separando los azúcares por cromatografía, utilizando una columna DEAE (pH 5.0). La viscosidad cinemática se determinó utilizando un viscosímetro de Ostwald.

El rendimiento en pectina obtenido fue de 15% y la productividad de 7.8 g pectina 100 g pomaza<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. El contenido de ácido galacturónico fue 46.3% y de azúcares neutros 53.1%. El análisis de FTIR-ATR mostró pectina parcialmente esterificada, con un porcentaje de esterificación aproximado de 71.6%. El perfil fue similar al obtenido para la pectina comercial (Sigma#9135), con diferencias en la zona espectral perteneciente a la composición de azúcares. Al analizar la distribución de los azúcares por cromatografía de intercambio catiónico, se observó que existen tanto azúcares libres como ligados al ácido galacturónico, posiblemente perteneciente a las ramificaciones de los dominios de ramnogalacturonanos. La viscosidad cinemática de una solución 20 g l<sup>-1</sup> de la pectina obtenida fue de 42.01 m<sup>2</sup> seg<sup>-1</sup>.

Este trabajo demuestra que las pectinasas antárticas pueden ser útiles para obtener pectina de manera más eco amigable y con un importante ahorro energético. La pectina extraída demostró características interesantes. Será evaluada su utilización para la gelificación con azúcares de bajo contenido calórico, fibra y fructooligosacáridos.

## OPTIMIZACIÓN DE PCR CUANTITATIVA A PARTIR DE LA PREDICCIÓN FUNCIONAL DE CONSORCIOS DEGRADADORES DE HIDROCARBUROS OBTENIDOS DE SEDIMENTO CONTAMINADO

Zulueta M. (1), Morelli I.S. (1,2), Madueño L (1)\*

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), La Plata, Argentina. (2) CIC PBA, La Plata, Argentina.

\* lmadueno@biotec.química.unlp.edu.ar

Un ensayo de qPCR optimizado es aquel que permite obtener resultados sólidos, reproducibles y estadísticamente significativos, siendo las pautas MIQE (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR experiments) una guía actual de los procedimientos experimentales indispensables para lograrlo. La búsqueda y/o diseño de los primers para cuantificar genes de interés puede acotarse y ser específica de la muestra si conocemos los microorganismos allí presentes y sus potenciales funciones. El objetivo del trabajo fue seleccionar genes de degradación específicos de la muestra y optimizar su cuantificación en ensayos de qPCR, para utilizarlos en estrategias de biorremediación de sedimentos contaminados con hidrocarburos.

La gran diversidad microbiana de los sedimentos dificulta la optimización de la qPCR cuando los genes de interés se encuentran en bajas copias. Por lo tanto, para facilitarla se utilizaron consorcios microbianos degradadores (P40F, P20F), obtenidos previamente mediante enriquecimientos sucesivos con fenantreno y sedimento del sitio afectado.

Se extrajo ADN de los consorcios con EZNA Soil (OMEGA) Kit, se secuenció parcialmente el gen 16S rRNA (Illumina MiSeq), se realizó la asignación taxonómica (Microbiome Helper 16S) y predicción funcional de los metagenomas (PICRUSt). Utilizando las pautas MIQE (diferencias  $Ct < 0,5$  entre réplicas, eficiencias entre 95-110%, curva patrón con  $r^2 > 0,95$ ,  $Ct$  de las muestras en el rango lineal de la curva patrón, límite de cuantificación), se cuantificaron los genes degradadores aeróbicos 2,3 catecol dioxigenasa (*xylE*), alcan-1-monooxigenasa (*alkB*), 1,2 naftaleno dioxigenasa (*ahdA1b*) y el gen 16S rRNA para eubacterias.

La asignación taxonómica mostró en P40F la presencia de los géneros *Pseudomonas* (37%), *Dyella* (27%), *Rhodococcus* (12%) y de la familia *Alcaligenaceae* (10%) siendo los dos últimos, según la predicción funcional, los que más genes de degradación aportarían. P20F mostró la presencia en similares proporciones de los géneros *Pseudomonas* y *Novosphingobium*, observando un bajo número de genes de degradación predichos. Estos resultados se utilizaron en la selección de primers para amplificar *alkB* en *Rhodococcus* spp. y *Pseudomonas* spp., *ahdA1b* y *xylE* en *Sphingomonas sensu latu.*, y 16S rRNA en eubacterias.

P20F y P40F mostraron  $6,5 \times 10^5$  y  $6,2 \times 10^6$  copias del gen 16S rRNA/ng ADN respectivamente. En concordancia con la predicción funcional, *alkB* fue cuantificado en mayor número de copias en P40F ( $6,24 \times 10^4$  copias/ngADN) que en P20F ( $4,8 \times 10^3$  copias/ngADN) ( $P < 0,05$ ), *xylE* mostró número de copias similares ( $P > 0,05$ ) y el gen *ahdA1b* se encontró por debajo del límite de cuantificación en los consorcios.

Los resultados mostraron que la asignación taxonómica y predicción funcional, fueron herramientas útiles y confiables para la selección de genes funcionales. La optimización de la qPCR de genes degradadores permite utilizarlas en ensayos de biorremediación de sedimentos contaminados.

## INFLUENCIA DE 2,4-D SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Aspergillus* sección *Flavi* BAJO DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES Y SU CAPACIDAD DE DEGRADAR EL HERBICIDA EN AGUAS RESIDUALES SINTÉTICAS

Magnoli, K\*, Aluffi, ME, Carranza, CS, Benito, N Magnoli, CE, Barberis, CL

IMICO-CONICET. Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico- Químico y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nacional 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

\*kmagnoli@exa.unrc.edu.ar

El ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), es el tercer herbicida más utilizado en Argentina, Brasil y el primero en el mundo. Es utilizado para el control de malezas de hoja ancha resistentes a glifosato. Diversas industrias agrícolas producen al año miles de toneladas de 2,4-D, generando y liberando al ambiente grandes volúmenes de aguas residuales contaminadas con este herbicida lo que genera un impacto negativo. Los hongos filamentosos son una importante herramienta biotecnológica capaces de degradar estos compuestos en el ambiente. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la influencia de 2,4-D sobre los parámetros de crecimiento de una cepa de *Aspergillus* sección *Flavi* en aguas residuales sintéticas en base sólida (ARS) bajo diferentes condiciones ambientales, y la posterior capacidad de la misma de degradar el herbicida *in vitro*.

A partir del aislamiento realizado de suelos contaminados con 2,4-D, se seleccionó un aislado representativo del género *Aspergillus* y se identificó en base a sus caracteres morfológicos y bioquímicos. Para determinar la influencia de 2,4-D en el crecimiento de la cepa, la misma se inoculó centralmente (a partir de una suspensión de esporas) en un medio sólido de ARS bajo diferentes concentraciones de 2,4-D (0, 1 y 5 mM) y a diferentes condiciones de pH (5, 7 y 9) y temperatura (15, 25 y 37 °C) durante 21 días. Para los ensayos de degradación, la cepa se inoculó en 150 mL de ARS con el agregado de 5 mM de 2,4-D como principal fuente de carbono y se incubó en agitación constante a 25 °C durante 21 días. Se tomaron muestras de 1 mL al comienzo del ensayo y a los 7, 14 y 21 días para determinar la concentración residual de 2,4-D en el medio de cultivo.

La cepa seleccionada fue identificada como miembro del grupo *A. flavus* (RCA 4). Cuando se estudió su comportamiento frente a las diferentes concentraciones de 2,4-D, se observó que la misma fue capaz de crecer en presencia de 1 mM de 2,4-D a los tres niveles de pH ensayados, a 25 y 37 °C, mientras que a 5 mM creció sólo a pH 5 y 7, a 25 y 37 °C. A pH 9 y a 5 mM, no se observó crecimiento fúngico en ninguna de las temperaturas ensayadas. Por otro lado, a 15 °C la fase de latencia se extendió por más de 21 días en todas las condiciones ensayadas. Debido a que la misma fue capaz de crecer en ambas concentraciones de 2,4-D, se seleccionó la más alta para los posteriores ensayos de degradación. Como resultados de los mismos, se obtuvo que la cepa RCA4 removió el 52% del herbicida presente en el medio de cultivo a los 21 días del ensayo. Se observó que la remoción del herbicida se produjo con ausencia de fase de aclimatación por parte de la cepa y que la tasa de degradación permaneció constante durante todo el ensayo. La capacidad de RCA4 de remover 2,4-D en aguas residuales sintéticas se considera una herramienta prometedora para la aplicación de las mismas como procesos de bioaumentación permitiendo disminuir la contaminación de 2,4-D en aguas residuales agrícolas.

## BIOAUMENTO DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (PAH). EFICIENCIA DE DISTINTOS CONSORCIOS BACTERIANOS FRENTE A SUELOS CON DISTINTA HISTORIA DE CONTAMINACIÓN

Esteban E. Nieto (1), Sabrina Festa (1), Irma S. Morelli (1, 2), Bibiana M. Coppotelli (1)\*

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales, CINDEFI (UNLP; CCT-La Plata, CONICET), La Plata, Argentina; (2) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina

\*estebanenieto@gmail.com

El bioaumentación es una estrategia de biorremediación utilizada cuando la capacidad de biodegradación intrínseca de la comunidad es insuficiente. Su eficiencia depende del establecimiento del inoculante. El uso de consorcios aumenta la probabilidad de que esto ocurra debido a la existencia de relaciones sintróficas entre sus miembros. En trabajos previos, se diseñaron tres consorcios sintéticos degradadores de PAH a partir de cepas aisladas de un consorcio natural degradador de fenantreno: CS:AM-Bk (*Sphingobium* sp. AM y *Burkholderia* sp Bk en relación 65:35), CS-1 (*Sphingobium* sp. AM, *Pseudomonas* sp. Bc-h y T, *Inquilinus limosus* Inq y *Klebsiella aerogenes* B) y CS-4 (las 5 cepas anteriores más la cepa Bk). En CS-1 y CS-4 las cepas se inocularon en igual proporción. Se demostró que estos consorcios presentaron una eficiencia de degradación de PAH superior al consorcio natural y a los cultivos axénicos de las cepas degradadoras de PAH, AM y Bk, evidenciando la existencia de relaciones sintróficas entre sus miembros.

El objetivo de este trabajo fue analizar la eficiencia de degradación de PAH de los consorcios sintéticos en un suelo prístino (SP) con una contaminación aguda y un suelo crónicamente contaminado (IPKn). Se prepararon microcosmos por triplicado con 150 gr de cada suelo tamizado y se llevó a cabo una estrategia de bioaumentación utilizando los tres consorcios sintéticos degradadores de PAH previamente descritos. Los microcosmos correspondientes a SP se contaminaron con una mezcla de PAH (600 mg de fenantreno, 150 mg de fluoreno, 150 mg de pireno y 100 mg de antraceno por Kg de suelo seco). Para cada suelo se realizaron controles sin inocular. Los microcosmos se incubaron a 25°C durante 58 días y se tomaron muestras a los 0, 15, 30 y 58 días de incubación. Se evaluó la degradación de PAH (extracción exhaustiva con acetona-hexano 1:1/GC-FID) y a los 0 y 30 días de incubación se cuantificó el número de copias del gen 16S rARN y del gen específico de degradación PAH-RHD $\alpha$  GN (sobre extracción ADN total utilizando el Kit E.Z.N.A.<sup>TM</sup> Soil DNA/qPCR).

Al día 30 de incubación se observó en los sistemas SP inoculado degradación de fenantreno y antraceno superior al 99% y significativamente superior al control. A su vez el número de copias del gen 16s rARN por gramo de suelo seco fue del orden de  $10^8$ - $10^9$  y el número de copias del gen PAH RHD $\alpha$ -GN fue del orden de  $10^4$ - $10^5$  (los controles mostraron valores menores a  $10^4$ ). En IPKn no se logró evidenciar degradación de los PAH presentes en los tiempos de muestreo con los inoculantes utilizados. Sin embargo, se encontraron valores de número de copia de  $10^5$  para el gen PAH RHD $\alpha$ -GN. Aun tratándose de consorcios donde las relaciones sinérgicas habían sido demostradas, el bioaumentación con consorcios sintéticos solo fue efectivo como estrategia de biorremediación en suelos recientemente contaminados con PAH, mientras que no se demostró degradación de dichos compuestos en el suelo con contaminación crónica.

## DE LA METAGENÓMICA AL CULTIVO: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA BACTERIANA DEGRADADORA DE PIRENO A PARTIR DE UN SUELO CRÓNICAMENTE CONTAMINADO CON PAH

Sabrina Festa (1), Marina Granada (1), José M Irazoqui (2), Ariel F. Amadio (2),  
Irma S. Morelli (1,3), Bibiana M. Coppotelli (1)

(1) CINDEFI, La Plata, Argentina. (2) IdICaL (INTA-CONCET), Rafaela, Santa Fe (3) CIC-PBA,  
Buenos Aires, Argentina.  
sfesta@biotec.quimica.unlp.edu.ar

El pireno es un hidrocarburo policíclico aromático de alto peso molecular (HW-PAH) persistente en el ambiente y de alta toxicidad. Un tratamiento para los suelos contaminados con HW-PAH es la biorremediación, pero su efectividad depende de la presencia y actividad de microorganismos capaces de transformar estos contaminantes. La inoculación con microorganismos degradadores de HW-PAH (bioaumento) es una estrategia recomendada. El objetivo de este trabajo fue utilizar un análisis de metagenómica *shotgun* de un suelo crónicamente contaminado con PAH (IPKn), con alta concentración de pireno, para determinar el potencial degradativo del sistema y como herramienta de bioprospección de bacterias degradadoras de HW-PAH.

A partir del ADN total de la comunidad se realizó un análisis de metagenómica *shotgun* (Illumina MiSeq) y se analizó utilizando distintos *softwares*: Trimmomatic (limpieza), Spades (ensamblado), Prodigal e Interproscan (predicción y anotación de genes) y KRAKEN2 (clasificación taxonómica). La mayoría de las secuencias se asignaron al filo *Actinobacteria*, con un predominio del orden *Streptomyetales* y algunas secuencias se asignaron a *Corynebacteriales*. Se encontró un alto porcentaje de genes codificantes de enzimas de la vía degradación de naftaleno, ácido ftálico, ácido salicílico, meta clivaje de catecol y protocatecuato. Se encontraron genes codificantes para la enzima catecol 1,2-dioxigenasa, protocatecuato 2,3-dioxigenasa y una dioxigenasa de la familia Rieske non-heme iron. A partir de estos resultados se buscó aislar bacterias Gram (+) degradadoras de pireno, para lo cual se sembró una alícuota de una suspensión del suelo IPKn en R3A con agarosa y pireno. Todas las colonias que presentaron halo de solubilización fueron bacterias Gram (+). Se secuenció el gen 16SrRNA de las cepas aisladas y se evaluó la presencia de genes relacionados con la degradación de pireno (PCR). Se estudió la degradación fenantreno y pireno (y mezcla de ambos) en MML suplementados con 100 ppm de PAH (HPLC-UV) y se obtuvieron las curvas de crecimiento en dichos compuestos. Se logró aislar 3 cepas filogenéticamente relacionadas con la familia *Mycobacteriaceae* (S19P6) y *Nocardioideaceae* (S19P4a, S19P5). En la cepa S19P6 se encontró el gen *nidA* y *pahE* codificantes de las enzimas del primer y quinto paso de la ruta de degradación de pireno. Esta cepa fue la única capaz de crecer y de degradar el 80% del pireno y la totalidad del fenantreno suplementados como UFCE luego de 14 días de incubación. En mezcla de ambos PAH la cinética de degradación fue distinta, sin modificación del porcentaje final de degradación.

Si bien la familia predominante según el análisis por metagenómica *shotgun* fue *Streptomyetaceae*, la única cepa capaz de degradar pireno que fue posible aislar se asignó taxonómicamente a la familia *Mycobacteriaceae* (*Corynebacteriales*). La cepa S19P6 podría ser un buen candidato como inoculante en estrategias de bioaumento de suelos contaminado con HW-PAH.

## EFFECTO DEL COBRE SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Lolium multiflorum* Lam. MEDIADAS POR EL HONGO ENDÓFITO *Epichlōe occultans*

Alexis Magalí de las Nieves Ovejero (1,2)\*, Silvana Irene Torri (2), Pedro Emilio Gundel (2,4), Analía Menéndez (2,3)

(1) Cátedra de Química Inorgánica y Analítica, Departamento de Recursos Naturales y Ambiente Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de investigaciones fisiológicas y ecológicas Vinculadas a la Agronomía (IFEVA), Universidad de Buenos Aires - Conicet, Argentina. (3) Cátedra de Ecología, Departamento de Recursos Naturales y Ambiente, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina. (4) Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Talca, Talca, Chile.

\*aovejero@agro.uba.ar

Las actividades antrópicas a través de los distintos usos de la tierra y de industrias, conducen a problemas ambientales entre los cuales se destaca la contaminación de suelos con elementos traza. La fitorremediación es una opción de bajo costo con capacidad de inmovilizar o remover estos contaminantes poco móviles. Investigaciones sugieren que las asociaciones simbióticas con microorganismos mejoran la tolerancia de las plantas al estrés abiótico. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad del hongo endófito *E. occultans* de mejorar la respuesta germinativa de semillas del pasto *L. multiflorum* (raigrás anual) a concentraciones crecientes de cobre.

Se llevaron a cabo dos experimentos con semillas con y sin endófito (E+ y E- respectivamente), expuestas a distintas concentraciones y sales de cobre, incubadas en una cámara a 15/25°C. En el primero se utilizaron 5 dosis (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 mM) de sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) y se midió emergencia de la radícula diariamente por 10 días. Luego, las semillas no germinadas fueron pasadas a agua destilada para evaluar posible inhibición de la germinación versus mortalidad.

En el segundo experimento, además del  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,0; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 mM), se agregaron dos dosis de cloruro de cobre dihidrato ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (1,0 y 1,5 mM) para evaluar el efecto de los contraiones y separar el efecto promotor del sulfato del ión cobre presuntamente tóxico. A los 7 días se registró la germinación; y las no germinadas fueron pasadas a agua para separar viables de muertas. Se evaluó longitud de raíz y coleoptile de las plántulas.

En líneas generales, se observó que el aumento de la concentración de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  disminuye el porcentaje de germinación, aunque en dosis medias (0,5-1,5 mM) el hongo aumenta significativamente la proporción de germinación. Sin embargo, se advirtió la inhibición parcial del crecimiento de raíces (más no del coleoptile) en tratamiento E+ y E- a partir de la dosis 1,0 mM. La cantidad de semillas muertas/no germinadas incrementó con la dosis de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , variando también la reversibilidad de la toxicidad. En la concentración más alta (2,5 mM) tanto E+ como E- fueron igualmente inhibidas. En cuanto  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , a iguales concentraciones con  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , generó mayor impacto negativo sobre la germinación. En ambas concentraciones de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (1,0-1,5 mM), nuevamente la promoción del endófito sobre la germinación fue evidente, al igual que el aumento en la supervivencia a 1,5 mM.

Finalmente, concluimos que si bien el endófito *E. occultans* favorece al pasto hospedador en su capacidad para germinar y sobrevivir en presencia de cobre, el beneficio depende fuertemente de la concentración del mismo en el suelo. En futuros estudios, sería necesario no solo observar el desempeño a lo largo de todo el ciclo de la planta, sino también, evaluar los posibles efectos tóxicos del Cu sobre el hongo endófito.

**CONFORMACIÓN DE UN BANCO DE CEPAS PROVENIENTES DE LA ENDOSFERA RADICULAR DE *Deschampsia antarctica* PARA PROCESOS DE FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA POR MICROORGANISMOS EN SUELOS DE LA ANTÁRTIDA ARGENTINA**

Ezequiel Tomas (1), Susana Vázquez (1,2), Walter Mac Cormack (2,3), Francisco Massot (2,3), Lucas Ruberto (1,2,3)\*

(1) Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. (2) Instituto NANOBIOTEC UBA-CONICET, CABA, Argentina. (3) Instituto Antártico Argentino, Villa Lynch, Pcia.de Buenos Aires, Argentina  
\*luruberto@gmail.com

Los hidrocarburos del petróleo son los contaminantes más frecuentemente reportados en el mundo por su uso generalizado como combustibles y materia prima en la industria. El continente antártico no queda exento a las consecuencias que éstos ocasionan. Las estaciones científicas, el transporte y las actividades turísticas, dependen directamente de los hidrocarburos como fuente de energía. Las estrictas normas ambientales que regulan la actividad en ese continente motivan la necesidad de aplicar métodos de remediación amigables con el ambiente y aceptados por la comunidad internacional. En el caso de esos particulares suelos, la fitorremediación asistida por microorganismos surge como una alternativa adecuada, ya que se han registrado ejemplares de *D. antarctica* creciendo en suelos crónicamente contaminados con gasoil antártico (GOA) en la base "Carlini" (Isla 25 de Mayo, Shetland del Sur, Antártida Argentina). El objetivo de este trabajo fue obtener, optimizar y sistematizar un banco de cepas bacterianas en base al cual realizar ensayos tendientes a seleccionar aquellas más promisorias para ensayos de inoculación que formen parte de una estrategia de fitorremediación asistida por microorganismos específica para suelos antárticos.

Para ello, se llevó a cabo el aislamiento de bacterias provenientes de la endosfera de la raíz de ejemplares de *D. antarctica* de suelos contaminados y de distintos sitios prístinos localizados en la Península Potter utilizando un procedimiento de esterilización superficial de raíces (optimizado para esta especie vegetal) con posterior macerado y siembra en medio oligotrófico, con incubación a una temperatura de 5°C, en presencia y ausencia de GOA en una concentración de 10.000 mg/kg. Se purificaron y criopreservaron células a partir de 246 colonias. La redundancia del banco fue evaluada y acotada por un método de PCR basada en elementos repetitivos (BOX-PCR), determinando un total de 140 cepas únicas. Finalmente, 14 cepas de este banco, provenientes de raíces obtenidas de suelos contaminados, fueron identificadas por secuenciación parcial del gen ARNr 16S, para luego evaluar su tolerancia al GOA mediante detección de la CIM en medio sólido por método de microgota.

Esta caracterización inicial permite realizar distintos ensayos de promoción de crecimiento vegetal y de interacción planta-microorganismo de manera racional. para determinar qué microorganismos son los más adecuados para llevar a cabo ensayos a campo tendientes al desarrollo de una efectiva herramienta de fitorremediación.

## DIVERSIDAD DE METABOLISMOS RESPIRATORIOS ANAEROBIOS EN EL SEDIMENTO DE SALITRAL NEGRO, LA PAMPA

Juan Ignacio Solchaga (1, 2), Déborá Nercessian (1)\* y Juan Pablo Busalmen (2)\*  
(1) Instituto de Investigaciones Biológicas, UNMdP-CONICET, Mar del Plata, Argentina. (2)  
INTEMA, UNMdP-CONICET, Mar del Plata, Argentina  
\*dnercess@mdp.edu.ar; \*jbusalme@gmail.com

Los ambientes hipersalinos exhiben una concentración de sales superior al 10%, siendo la vida en ellos energéticamente costosa. Dada la presión osmótica que enfrentan, los microorganismos hiperhalófilos desarrollaron estrategias adaptativas como la acumulación de iones potasio o de solutos compatibles, modificando su metabolismo y maquinaria intracelular. En estos ambientes se encuentran representados los tres Dominios de la vida, siendo Archaea y Bacteria los predominantes. Nuestro grupo investiga la diversidad microbiana de la salina Salitral Negro (La Pampa, Argentina) desde hace años, centrándonos en este caso en la comunidad de respiradores anaeróbicos presentes en el sedimento, a fin de identificar los aceptores electrónicos que pueden utilizar y las asociaciones ecológicas que pueden darse en función de estos metabolismos. Se abordó también el estudio de los osmolitos acumulados para determinar una posible relación entre estos mecanismos adaptativos y el aceptor electrónico utilizado.

A partir de muestras de sedimento del Salitral Negro se hicieron repiques en medios definidos utilizando lactato como dador y nitrato, sulfato, fumarato, tiosulfato o un electrodo polarizado como aceptores electrónicos. Los enriquecimientos se burbujearon con N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> (80:20) para desoxygenar y se cultivaron en recipientes herméticos a 42°C en oscuridad, repicando periódicamente. Una vez estabilizados los consorcios, se extrajo ADN y se amplificó un fragmento del gen de la subunidad 16S del ARNr, usando cebadores específicos para arqueas y bacterias. Los productos se analizaron por electroforesis de gradiente desnaturizante (DGGE 45-65% urea-formamida). Las bandas se reamplificaron y enviaron a secuenciar para identificar los microorganismos de cada consorcio. Alícuotas de cada uno se analizaron para conocer los osmolitos presentes. Se realizó una extracción etanólica para cuantificar prolina y glicina-betaína por HPLC. Para conocer el contenido de potasio intracelular las muestras se sonicaron y enviaron a analizar por la técnica de plasma inductivamente acoplado (ICP).

Se obtuvo crecimiento con todos los aceptores utilizados, con tiempos de duplicación muy diferentes. Con nitrato se logró la mayor velocidad, seguido de fumarato. El desarrollo de los demás cultivos fue menor, medido tanto por su tiempo de duplicación, como por absorbancia máxima alcanzada. En todos los consorcios se encontraron arqueas y bacterias, incluidas algunas no descritas anteriormente como respiradoras de los sustratos en los que se las detectó en este trabajo. La acumulación de glicina-betaína como osmolito fue mayoritaria y no se detectó presencia de prolina en estos cultivos. La cantidad de potasio detectada sugirió que la utilización de este ión sería una estrategia secundaria.

Los resultados presentados contribuyen a profundizar el conocimiento existente sobre la diversidad y fisiología de la microflora anaeróbica de ambientes hipersalinos, que permanece aún muy poco explorada.

## EL INFORME DE LABORATORIO COMO ESTRATEGIA EN LA FORMACIÓN DE COMUNICADORES EN CIENCIAS

Adriana Valeria Muñoz (1)\*, Maximiliano Gutierrez (1), Graciela Pucci (1).

(1) Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Comodoro Rivadavia, Argentina.

\*valeria-munioz@hotmail.com

La elaboración de informes de cada trabajo práctico forma parte de la metodología de enseñanza que plantea la asignatura Microbiología General, dictada en cuarto año de las carreras de Bioquímica, Farmacia y Licenciatura en Química de la UNPSJB. La principal característica del mismo es que tiene formato de artículo científico para que los estudiantes se formen como comunicadores de sus resultados y discutan de forma apropiada los mismos. Este trabajo tuvo como objetivo conocer cuál es el aporte de la redacción de informes con formato de artículo científico en los estudiantes.

Se utilizó una encuesta en línea, anónima, a los alumnos que cursaron la asignatura en los años 2017 a 2019 de la cual participaron el 61%. La redacción del informe es un proceso que presenta una evolución en los estudiantes con el transcurrir de la cursada, estos lo consideraron una herramienta útil para presentar los resultados y su interpretación (81%), para cerrar el contenido del trabajo práctico siendo una instancia del proceso de aprendizaje (79%) y resultó el uso de este formato una instancia que impactó en su formación académica (78%) en la cual aprendieron a comunicar los resultados de una forma clara y ordenada (68%). La redacción del informe de laboratorio es parte esencial de la apropiación de los conocimientos del trabajo práctico y el formato de trabajo científico una herramienta para los estudiantes en su formación de comunicación de resultados como comunicadores en ciencias.

## EVALUACIÓN DE UNA ESTRATEGIA DE AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS HIDROCARBONOCLASTAS CON MATERIALES FÁCILMENTE ACCESIBLES Y DE BAJO COSTO

Fátima Rodríguez Vázquez (1), Silvia María Vargas Saénz (1), Juan Antonio Ramírez Vázquez (1), Daniella Medina-Ruiz (1)\*

(1) Departamento de Ciencias Ambientales, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Irapuato, México.

\*d.medina@ugto.mx

Las bacterias hidrocarbonoclastas son organismos que utilizan a los hidrocarburos como fuente de energía, logrando la degradación de estos compuestos y permitiendo a su vez, la transformación a compuestos de menor toxicidad. Por lo tanto, son ideales para la biorremediación, ya que además, las bacterias no degradantes se eliminan gradualmente. Debido a la emergencia sanitaria por COVID-19, los estudiantes de la carrera de ingeniería ambiental en nuestra casa de estudios se vieron imposibilitados para realizar las actividades prácticas de la materia de microbiología en el laboratorio, por lo que, para llevar a cabo los proyectos finales de manera práctica, se propuso hacer uso de equipos y materiales disponibles en sus hogares que pudieran adquirirse fácilmente a un costo sumamente accesible. El objetivo fue evaluar la viabilidad de que los estudiantes aislaran y caracterizaran bacterias degradadoras de hidrocarburos de sitios contaminados presentes en los alrededores de sus hogares con materiales presentes en sus casas o a los que pudieran acceder con una mínima inversión económica, evitando así su movilidad para evitar el riesgo de contagio.

El material fue “esterilizado” en un recipiente de aluminio con tapa, durante 15 min a baño maría en ebullición. La muestra de suelo se obtuvo de un sitio que constantemente es contaminado con hidrocarburos (aceite automotriz principalmente), se recolectó en un frasco de vidrio estéril y se suspendió en agua, usando aproximadamente 1 g de la muestra y 10 ml de agua embotellada, agitando vigorosamente para facilitar el desprendimiento de los microorganismos adheridos en las partículas del suelo. El medio de cultivo sólido se preparó con agua embotellada hirviendo y gretina al 20% y el medio de cultivo para la prueba de motilidad se realizó al 10%. En el medio de cultivo sólido de aislamiento se utilizó solvente comercializado como “thinner” como única fuente de carbono, colocando discos de filtro de cafetera impregnados con el solvente al centro de la “placa”. Para la caracterización del microorganismo aislado: la prueba de la catalasa se llevó a cabo con peróxido de hidrógeno al 3%, la fluorescencia de las colonias se evaluó con una lámpara de luz ultravioleta y la fermentación de lactosa se evaluó utilizando medio BD MacConkey. Todas las pruebas se realizaron por triplicado en dos experimentos independientes. El microorganismo aislado formó colonias redondas de color amarillo pálido de borde irregular, fue positivo a la prueba de motilidad y a la prueba de la catalasa, presentó fluorescencia al ser expuesto a luz ultravioleta y la fermentación de lactosa fue negativa.

Los resultados anteriores nos permiten sugerir que el microorganismo aislado pertenece al género *Pseudomonas*, así como afirmar que es factible aislar y realizar pruebas de caracterización de bacterias degradadoras de hidrocarburos de sitios contaminados, con materiales comunes y de mínimo costo, fuera del laboratorio.

## EXPERIENCIA Y REFLEXIONES SOBRE LA ENSEÑANZA DE LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN TIEMPOS DE LA PANDEMIA DE COVID-19

Adriana Gallardo (1)\*, Laura Alvarez (1), Laura Gallegos (1,2), Brenda Beleiro (1), Carla Cortés(1)  
(1) Cátedra de Microbiología Clínica, Departamento de Bioquímica-Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB). Comodoro Rivadavia. Chubut, Argentina. (2) Instituto de Biociencias de la Patagonia (INBIOP), Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.  
\*adryarg@yahoo.com.ar

La asignatura de Microbiología Clínica dictada para la carrera de bioquímica en la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, es la primera materia de la carrera correspondiente al ciclo de formación profesional. Su principal fortaleza reside en la posibilidad que tiene el alumnado de realizar extensivas actividades prácticas, las cuales se vieron imposibilitadas en el contexto mundial de pandemia. Educar en estos tiempos de pandemia significó un reto como docentes y un proceso de adaptación de los estudiantes a las nuevas aulas virtuales, abandonando las clases presenciales habituales. El objetivo del presente trabajo es transmitir nuestra experiencia como docentes, analizar y valorar las nuevas estrategias en el proceso de enseñanza-aprendizaje.

Una vez finalizada la cursada se realizaron encuestas anónimas a los estudiantes a fin de conocer la efectividad de las herramientas utilizadas. En el análisis de los resultados, se destacaron y valoraron tres aspectos: acompañamiento de los docentes, tiempo transcurrido entre los conceptos teóricos-prácticos y la posibilidad de estudio *on-demand*. Respecto al primer punto, se estableció comunicación con los estudiantes a través de los foros del aula virtual, mediante correo electrónico y WhatsApp, siendo este último el de preferencia de los alumnos. El otro punto destacado se refiere al hecho de que las prácticas de laboratorio (de tiempo reducido y con jerarquización de contenidos) fueron realizadas luego de obtener los conceptos teóricos, es decir, que se aplicó el modelo de clase invertida-*flipped classroom*- donde la exposición y el trabajo informativo se desplegó en el espacio virtual de manera asincrónica. Sobre estos puntos los alumnos expresaron que, si bien la práctica fue adecuada desearían que sea más extensa. También destacaron como beneficiosa la posibilidad de manejar sus tiempos, lo que genera un mejor aprovechamiento de las clases teóricas. Como desventaja mencionaron que, al no realizar las técnicas de laboratorio, resultan abstractas y difíciles de entender.

A partir de estos resultados podemos concluir que el uso de las vías informales permitió generar un clima socio-afectivo adecuado, basado en el respeto mutuo, que impacta luego en los procesos de aprendizaje. Además, las clases grabadas promueven que los alumnos sean autodidactas y se responsabilicen de su propio aprendizaje porque les permite estudiar de acuerdo a sus necesidades y disponibilidades de tiempo y conexión. Sin embargo, está claro que los alumnos necesitan de la presencialidad para realizar las actividades de laboratorio. Por ende, como formadores debemos asumir nuevos roles de facilitadores y moderadores en miras de una educación post-pandemia, que cada día nos aleja más de la clase magistral y nos acerca a un modelo de enseñanza bimodal. Nuestra proyección es seguir trabajando para lograr vencer las dificultades identificadas y ofrecer la mejor calidad de enseñanza a nuestros estudiantes.

**FORTALECER EL APRENDIZAJE A PARTIR DE LA INTEGRACIÓN**

Maximiliano Gutierrez (1)\*, Adriana Valeria Muñoz (1), Graciela Pucci (1)

(1) Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia, Argentina.

\*gutierrez.me@hotmail.com

Microbiología General dicta nueve trabajos prácticos, y se utiliza la última semana para concluir con un trabajo práctico integrador de todas las prácticas, este tiene la posibilidad de recuperarse si no se aprueba en la primera instancia. Este consiste en colocar al alumno frente a una muestra incógnita que debe resolver de a pares, identificando dos de los tres microorganismos que están en la muestra líquida inicial y para ello deben organizar el tiempo, técnicas y materiales que deben usar. El equipo docente de la asignatura considera que este trabajo práctico es una buena herramienta para que los alumnos tengan un acercamiento a lo que vivirán en la práctica profesional y además probarse a sí mismos de que son capaces de resolver con lo aprendido durante la cursada. Este trabajo tiene como objetivo demostrar la importancia de la etapa de integración práctica para la formación académica del estudiante.

Se utilizó el dispositivo de encuesta en línea, anónimo, a los alumnos que cursaron la asignatura en los años 2017 a 2019 de la cual participaron el 61%. Los estudiantes en su mayoría denotan que las prácticas adquirida durante la cursada fueron adecuadas para emprender este desafío (89%), que fue un fortalecimiento personal (82%), que el razonamiento y criterio que debieron usar para resolver esta situación le sirvió posteriormente en otras situaciones (69%) y solo el 64% considera que utilizó en gran medida conocimientos teóricos aprendidos durante el cursado para resolver el trabajo práctico integrador.

La instancia de integración es necesaria como cierre de la materia, los estudiantes se sienten fortalecidos además de brindarles razonamientos y criterios que luego aplicarán en la resolución de problemas.

## APRENDIZAJES SIGNIFICATIVOS: PENSANDO EN LA DIMENSIÓN PSICOLÓGICA PARA (RE) SIGNIFICAR LA ENSEÑANZA DE LA MICROBIOLOGÍA AGRÍCOLA

Carla Bruno\*, Andrea Porporato, Amparo Heguiabehere  
Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina  
cbruno@ayv.unrc.edu.ar

Como docentes de la carrera de Agronomía, (UNRC), que participamos en una Especialización en Docencia Universitaria, venimos trabajando colaborativamente entre varias asignaturas en un proyecto para el mejoramiento de la enseñanza de grado (PIIMEG), desde una perspectiva constructivista y sociocultural de la enseñanza/aprendizaje.

En este marco, desde la cátedra de Microbiología Agrícola, nos propusimos considerar y repensar la dimensión psicológica del proceso enseñanza/aprendizaje, implementando en el año 2020, una propuesta didáctica que incluyó el trabajo a partir de conocimientos previos, aportes epistemológicos y situaciones problema, con el objetivo de generar contextos poderosos de aprendizajes (CPA) y con ello, aprendizajes significativos en los estudiantes. Además, incorporamos la metodología "FTA" para la toma de apuntes y el ejercicio de metacognición, es decir la definición del proceso de aprendizaje, tanto para los estudiantes como para los docentes.

Desde un enfoque cualitativo, realizamos observación de clases y análisis de materiales secundarios para implementar y evaluar la propuesta didáctica. Además, propusimos trabajos en grupo focales con elaboración de informes y sociabilización de los ejercicios de metacognición.

Los resultados fueron satisfactorios, ya que una alta proporción de los estudiantes adquirieron aprendizajes significativos, constructivos y colaborativos desde los CPA, ofreciendo experiencias en contextos reales, resaltando la significatividad de la tarea y el uso a futuro en su profesión. La toma de apuntes desde un enfoque estratégico utilizando la metodología FTA, (identificación de la Finalidad de la actividad, resumen de la Trama y la Atribución de sentido de lo tratado); permitió evaluar el nivel de comprensión de los estudiantes, elaborando una reconstrucción personal del discurso. Las premisas del razonamiento práctico que estimulan la autonomía de los estudiantes, potenciando la conciencia sobre los propios procesos cognitivos y la autorregulación de los mismos, fue valorada desde la reflexión metacognitiva.

Como docentes, poner en discusión nuestras prácticas y teorías con otros colegas estimuló la reflexión y el diálogo sobre la construcción de nuestro desarrollo profesional. Incorporar la dimensión psicológica amplía los horizontes y permite (re) significar la enseñanza de la Microbiología Agrícola. El ejercicio de revisar el mundo de la enseñanza/aprendizaje nos abre la puerta a seguir interpelándonos en nuestras prácticas y a reflexionar acerca del tipo de conocimiento que enseñamos los docentes universitarios; al cómo lo implementamos y a la posibilidad que estos ofrecen, a la hora de lograr aprendizajes significativos en los estudiantes.

## ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LA MUTACIÓN EN EL GEN *rpsL* (P91L) A LA RESISTENCIA A ESTREPTOMICINA EN *Brucella melitensis*

Marcos D. Trangoni\*, Bernardo A. Sioya, Pablo D. Farace,  
Andrea K. Gioffré, Silvio L. Cravero

Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO)-IB, Centro de Investigación en Cs. Veterinarias y Agronómicas (CICVyA)-CNIA INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

\*trangoni.marcos@inta.gob.ar.

La brucelosis es una enfermedad zoonótica producida por bacterias del género *Brucella* que puede afectar tanto animales domésticos como salvajes. El empleo de cepas vivas atenuadas de *Brucella* sigue siendo el método más exitoso para la prevención y su control, donde *B. melitensis* Rev.1 es la única autorizada para el uso en pequeños rumiantes. Esta cepa es resistente a 2,5 µg/ml de estreptomycin y susceptible a 5 UI de penicilina G; puede producir abortos al suministrarse a animales preñados; es patógena para el humano e interfiere en el diagnóstico serológico del animal. En humanos no existe vacuna y el tratamiento es mediante el empleo de antimicrobianos (doxiciclina combinada con estreptomycin o rifampicina) y medicamentos sintomáticos. Así, la cepa vacunal *B. melitensis* Rev.1 presenta resistencia a estreptomycin, uno de los antibióticos de elección en el tratamiento de la brucelosis humana. Las bases génicas de la resistencia a estreptomycin se hallan ampliamente estudiadas en varios microorganismos patógenos. Sin embargo, en *B. melitensis* Rev.1 se asume que la resistencia está asociada a una mutación puntual del gen *rpsL* y al momento no se han realizado ensayos que permitan dilucidar si el fenotipo es debido a la modificación descrita en dicho gen.

En el presente trabajo se estudió mediante PCR-RFLP la presencia de la mutación del codón 91 (P91L) en el gen *rpsL* codificante para la proteína ribosomal S12 y su asociación a la resistencia a estreptomycin en aislamientos de *B. melitensis* resistentes a dicho antibiótico generados en el laboratorio.

Se emplearon cepas de *B. melitensis* 16M obtenidas por selección en medio líquido y posterior repique en placa con estreptomycin. La resistencia a estreptomycin fue evaluada mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) por E-test. Se seleccionaron clones resistentes y se evaluaron mediante PCR-RFLP siguiendo el protocolo previamente descrito en la literatura. Como cepas control, se utilizó la cepa vacunal *B. melitensis* Rev.1 (resistente a 2,5 µg/ml de estreptomycin) y *B. melitensis* 16M (sensible a estreptomycin).

Se analizaron diez clones resistentes a estreptomycin, los cuales presentaron una CIM superior a las cepas control (*B. melitensis* Rev.1 y *B. melitensis* 16M). El análisis mediante PCR-RFLP de la presencia de la mutación puntual en el gen ribosomal *rpsL* demostró un patrón similar a la cepa salvaje *B. melitensis* 16M.

El estudio de las bases moleculares de la resistencia a estreptomycin es de importancia a fin de conocer su contribución en la cepa vacunal *B. melitensis* Rev.1. Los resultados obtenidos contrastan con los esperados, demostrando no corresponder con la causa descrita para *Brucella melitensis* Rev.1. Así, queda en evidencia que existen otros mecanismos responsables de la resistencia observada en *Brucella melitensis* y que deberán ser elucidados en futuros ensayos.

## ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE BACTERIAS LÁCTICAS AISLADAS DE PECES E INVERTEBRADOS MARINOS DE LA PROVINCIA DEL CHUBUT (PATAGONIA-ARGENTINA)

Franco M. Sosa (1,2) \*, Romina B. Parada (1,2), Emilio R. Marguet (1), Marisol Vallejo (1)  
(1) Laboratorio de Biotecnología Bacteriana. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Trelew, Chubut, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) de la República Argentina.

\*franco.m.sosa94@gmail.com

Durante los últimos años la industria alimentaria ha debido responder ante la continua demanda de los consumidores que exigen alimentos funcionales que exhiban probadas características benéficas para la salud. En esta línea, la oferta de productos con bacterias probióticas ha sido una de las más dinámicas. Los probióticos se definen como microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped, actuando como inmunomoduladores, antimicrobianos, anticancerígenos, etc. Las bacterias ácido lácticas (BAL) constituyen el grupo bacteriano más estudiado como potenciales probióticos. Sus efectos benéficos han sido ampliamente demostrados, sin embargo recientemente ha despertado gran interés la selección de cepas sobre la base de su capacidad antioxidante. Esta capacidad fisiológica se debe a la producción de exopolisacáridos de la pared celular, la actividad enzimática de la catalasa, la glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y la producción de metabolitos antioxidantes. El objetivo de este trabajo fue el aislamiento de cepas de BL provenientes de peces e invertebrados marinos de la provincia del Chubut (Patagonia-Argentina), su caracterización fenotípica y la evaluación de la capacidad antioxidante.

La capacidad antioxidante se determinó mediante el secuestro de radicales de 2,2-Difenil-1-picrihidrazil (DPPH). Las cepas se cultivaron en caldo MRS a 35 °C durante 18 h, posteriormente se centrifugaron a máxima velocidad y se descartaron los sobrenadantes. Los pellets se resuspendieron en agua destilada estéril, se mezclaron y se centrifugaron nuevamente. Este procedimiento se repitió dos veces para eliminar el medio de cultivo. Posteriormente los pellets se resuspendieron en 1,5 ml de DPPH, se incubaron a 37 °C durante 30 min y por último se centrifugaron a 12.000 g y se determinó la absorbancia de los sobrenadantes a 515 nm. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado mediante ensayos independientes.

Los aislamientos se identificaron como *Lactococcus lactis* (Lc 11, 12, 34 y 35), *Leuconostoc mesenteroides* (Ln 234, *Enterococcus faecium* (135, 452, 459, 465 y 468), *E. hirae* (106, 107, 108, 463 y 471) y *E. mundtii* (278 y ETw56). Los resultados obtenidos sobre la actividad antioxidante demostraron una variación entre 18% y 40%. Las cepas *E. hirae* 108 (39,5%), *E. mundtii* 278 (32,6%) y *E. faecium* 465 (31%) exhibieron las mayores actividades. Durante los últimos años ha aumentado el número de aislamientos de BAL provenientes de organismos marinos y el estudio de su metabolismo. Resulta de particular interés la producción de metabolitos bioactivos y/o de enzimas para su potencial aplicación biotecnológica en la elaboración de alimentos funcionales. En el futuro sería recomendable el estudio de la capacidad antioxidante como propiedad metabólica de selección.

## CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE BACTERIAS NATIVAS DEL INTESTINO DE CAMARÓN (*Penaeus vannamei*) CON POTENCIAL PROBIÓTICO

Maribel Jiménez-Edeza\*, Gloria M. Castañeda-Ruelas, Ma. Fernanda Flores-Fonseca, Salvador Domínguez-Lagunes, Sergio Gámez-Bayardo.

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Microbiológico, Programa Regional de Posgrado en Biotecnología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México.

\*mjimeneze@uas.edu.mx

Las bacterias probióticas nativas del intestino del camarón tienen la capacidad de mejorar y proteger la salud del camarón, por lo que las convierte en un grupo de microorganismos de relevancia biotecnológica. Estas bacterias pueden servir como materia prima para suplementar alimentos funcionales que ofrezcan beneficios a la cosecha del camarón. No obstante, la viabilidad y las propiedades probióticas de aislados deben evaluarse.

El estudio tuvo como objetivo caracterizar y evaluar algunas propiedades fisiológicas de aislados nativos de camarón (*Penaeus vannamei*) como potenciales agentes probióticos. El aislamiento de las bacterias ácido lácticas se realizó mediante cultivo tradicional a partir de muestras de intestino extraídas de camarón cultivados en condiciones controladas de laboratorio. La identificación y filogenia se realizó mediante pruebas bioquímicas y caracterización del gen ribosomal 16s, respectivamente. La viabilidad (UFC/mL) de las cepas se evaluó mediante pruebas de sobrevivencia *in vitro* de acidez (3, 5, 6 y 7), temperatura (4, 15, 30, 37 y 45°C) y salinidad (4, 6 y 8 %NaCl). La capacidad acidificante y producción de ácido láctico en leche descremada fue determinada.

Las cepas seleccionadas (n= 5) se indentificaron como cocobacilos, gram(+) y catalasa (-). Con base al análisis filogenético del marcador ADNr 16s, las cinco cepas aisladas de intestino de camarón correspondieron al orden *Lactobacillales*, y se relacionaron genéticamente con *Enterococcus faecium*. Las cepas de *E. faecium* presentaron sobrevivencia y crecimiento frente a los gradientes de temperatura, pH y salinidad evaluados. La cepa y el valor de los parámetros son factores que modulan el crecimiento de *E. faecium* ( $P < 0.05$ ). Todas las cepas son viables a la temperatura y salinidad del ensayo. Mientras que, solo el 40 % de las cepas son viables en un rango de pH de 3 – 7. El efecto de la temperatura y el pH sobre *E. faecium* es relentizar el tiempo de adaptación con el decaimiento del valor. Mientras que, la estabilidad de la concentración de *E. faecium* se prolonga con el aumento de %NaCl. Las cinco bacterias tienen la capacidad de acidificar el medio a las 48 h de ensayo, con un decaimiento de  $1.4 \pm 0.04$  Log y una producción de 0.00056 g/L de ácido láctico.

La identificación de *E. faecium* entre las cepas sugiere un clon común de la biota intestinal del camarón, y la definición de las características fisiológicas de la bacteria contribuye a ampliar el conocimiento sobre las condiciones de su crecimiento con el fin de emplearse como agente probiótico. Así mismo, la implementación de probióticos en la alimentación del camarón puede favorecer el ambiente y la sustentabilidad de las prácticas acuacuícolas.

## EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE LACTOBACILOS AISLADO DE HECES HUMANAS PARA SU CONSIDERACIÓN COMO AGENTE PROBIÓTICO

Gloira M. Castañeda-Ruelas, Ma. Fernanda Flores-Fonseca, Salvador Domínguez-Lagunes,  
Sergio Gámez-Bayardo, Maribel Jiménez-Edeza\*

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Microbiológico, Programa Regional de Posgrado en Biotecnología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México.

\*mjimeneze@uas.edu.mx

Las bacterias ácido láctica (BAL) o Lactobacilos son un grupo de microorganismos cuyas características metabólicas y productos son de interés biotecnológico. Las BAL pueden ser aisladas de diferentes fuentes (heces, productos lácteos, aguas residuales, etc.), y ciertas cepas tienen la propiedad de comportarse como probióticos ofreciendo beneficios a la salud humana y la industria alimentaria. Por lo que, las fuentes de aislamiento y la viabilidad de las BAL son claves para su uso.

Este estudio tiene como objetivo evaluar la estabilidad de tres cepas de Lactobacilos (*Lactobacillus mucosae*, *Weissella confusa*, *Enterococcus faecium*) aisladas de heces de individuos sanos para su consideración como agente probiótico. Para determinar la viabilidad (UFC/mL) de las cepas de Lactobacilos se realizaron pruebas *in vitro* en condiciones diferentes de temperaturas (4, 15, 30, 37 y 45 °C), pH (3, 5, 6 y 7), y % NaCl (4, 6 y 8 %) durante 12 h. Adicionalmente, la capacidad acidificante y en leche descremada fue determinada. Las cepas de *L. mucosae* y *E. faecium* presentaron viabilidad y crecimiento en los rangos de temperatura, pH y salinidad evaluados. Mientras que la viabilidad de *W. confusa* se limita a un cierto rango de temperatura (4 - 37 °C), pH (5-7) y % NaCl (4-6%). El gradiente de los parámetros fisicoquímicos modula el crecimiento de las bacterias ( $P < 0.05$ ). La influencia de la temperatura y pH indica que se prolonga la fase de adaptación y disminuye de la tasa de crecimiento conforme al descenso del valor de estos parámetros. A temperaturas bajas (4 - 15 °C) y altas (30 - 42 °C) se observa sobrevivencia y crecimiento, respectivamente. Mientras que el % de NaCl favorece un tiempo de adaptación prolongada cuando se aumenta la concentración. Las tres bacterias tienen la capacidad de acidificar la leche a las 48 h de ensayo: *L. mucosae* logra un decaimiento de 2.2 Log.

La caracterización de las propiedades fisiológicas y metabólicas de las cepas, permite proponer a los aislados de *L. mucosae* y *E. faecium* como potenciales agentes que puedan emplearse para el desarrollo de productos de interés biotecnológico. Adicionalmente, se requieren estudios para valorar el carácter probiótico.

**DETECTION OF *Campylobacter fetus* IN THE POST-GENOMICS ERA: A NEW TARGET FOR AN ACCURATE MOLECULAR DIAGNOSIS**

Pablo Farace (1), Claudia Morsella (2), Fernando Paolicchi (2), Silvio Cravero (1), Andrea Gioffré (1)\*

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO)-IB, Centro de Investigación en Cs. Veterinarias y Agronómicas (CICVyA)-CNIA INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Laboratorio de Bacteriología-Grupo de Sanidad Animal. Unidad Integrada INTA-Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

\* gioffre.andrea@inta.gob.ar

Reproductive diseases of livestock represent significant economic losses for the country. *Campylobacter fetus* is a fastidious microorganism and is considered a zoonotic pathogen. This bacteria is associated with infertility and abortion, a disease known as Bovine Genital Campylobacteriosis (BGC). *C. fetus* is a Gram-negative bacillus that comprises the mammalian subspecies *C. fetus venerealis* (Cfv) and *C. fetus fetus* (Cff). Several lines of evidence have questioned the need for identifying *C. fetus* subspecies. Additionally, current target genes employed for molecular diagnosis of *C. fetus* have been tested on a discrete number of samples or their target genes were not studied in depth. Thus, reliable molecular assays are still required to date. The availability of genomic sequences leaves open the possibility for searching and describing new target sequences to design novel and reliable diagnostic tools.

One representative whole genome sequence of each *Campylobacter* species, four representative genomes of *C. fetus* and also three genomes of closely related genus were selected from Genbank. They were annotated with Prokka and were employed as input to perform a global multiple sequence alignment (MSA) with progressiveMauve. Potential *C. fetus*-specific regions from the MSA were corroborated by local alignment with BLAST and then were aligned with MUSCLE to identify the conserved regions for designing specific primers (SnapGene). The gene coding for a dihydrodipicolinate synthase family protein was selected. Thirty-four isolates of *C. fetus* (Cff, n: 22; Cfv, n: 4; Cfvi, n: 8) obtained from bovine clinical samples and four isolates of other *Campylobacter* species were evaluated by PCR. The presence of a 150 bp product was indicative of *C. fetus*. The wet-lab assay was positive for all the *C. fetus* isolates tested. The same result was obtained through *in silico* analysis (PrimerMap) of 263 publicly available whole genome sequences (GenBank).

Herein we performed a study based on whole genome sequences data and global alignment to select a target sequence for an accurate molecular detection of *C. fetus*. We propose a novel PCR specific for *C. fetus* supported by genomic data and wet-lab assays.

## Patrocinadores





**VEOLIA**

Y-T E C

YPF TECNOLOGÍA



**AminoChem** S.A.  
AminoCompany Fertilizers And Chemicals

The logo consists of a square divided into three horizontal sections: a blue top section with a white circle, a green middle section, and a white bottom section.

**BARENBRUG**



**CAMVINDA**

Cámara argentina de mantenimiento de vías navegables y dragados ambientales

[info@camvinda.org](mailto:info@camvinda.org)



DRAGADOS  
PAGLIETTINI



**RIZOBACTER**

*Mejor Agricultura*