



CARACTERIZACIÓN DE UN AISLAMIENTO REALIZADO EN UN SUELO CON CULTIVO DE ALGODÓN A PARTIR DE COLONIAS MORFOTÍPICAS DE AZOTOBACTER SP.

Cossoli¹, Marcela R.; Iglesias², María C.

Información de contacto:

Teléfono/Fax: (03783) 427589 int. 158

Correo Electrónico: marcosoli@hotmail.com

Proyecto Acreditado

Biofertilización con *Azospirillum brasilense* en algodón (*Gossypium hirsutum*) y su influencia en la infección de hongos micorrícicos espontáneos. PI A 009-2008. Universidad Nacional del Nordeste. 2009-2012

Proyecto PRH N° 35: Fortalecimiento y Formación de Recursos Humanos para la Investigación y el Desarrollo Sustentable en Temáticas Tecnológicas de Interés para el Nordeste Argentino. ANPCyT - UNNE - UNAM. 2008-2012

Lugar de Trabajo

Facultad/Instituto: Facultad de Cs. Agrarias

Palabras Claves: Genes nif-H - Fijadores libres de nitrógeno

Resumen:

La actividad algodonera es una de las más significativas del Nordeste Argentino. Históricamente ha sido el principal cultivo en la región NEA. En el 2008 se realizó un ensayo de biofertilización en algodón utilizando macetas con suelo proveniente de la localidad de Las Breñas-Chaco (pH: 5,74; P: 36.25 ppm; Ca: 9.7 meq/100 g), uno de los inóculos utilizados fue aislado a partir del mismo suelo, considerando las características morfológicas de *Azotobacter sp.*, es decir que, las colonias eran marrones oscuras cuya población pertenecían a bacterias Gram (-) y el morfotipo celular correspondía a cocos. El inoculante generado contaba con una población de $0,9 \cdot 10^1$ microorganismos por mL. A partir de lo expuesto se plantea como objetivo del presente trabajo, continuar los análisis, incorporando técnicas moleculares, que permitan confirmar que los microorganismos que se utilizaron eran fijadores de nitrógeno. Para ello, en este trabajo se utilizaron 4 muestras de suelo pertenecientes a las macetas del ensayo antes descrito. Se realizó el cultivo de microorganismos fijadores libres de nitrógeno aplicando 2 técnicas: 1) Placa de suelo moldeado y 2) Siembra de suelo en medio líquido, utilizando en ambas la Solución Salina Standard de Winogradsky, como medio de cultivo, y como fuente carbonada, glucosa y manitol. Una vez que se produjo el crecimiento en las placas y tubos se procedió al repique de los mismos a tubos con medio de cultivo. En relación a las técnicas moleculares utilizadas, se realizó la extracción del DNA de los suelos y de los cultivos logrados. Estos fueron amplificados mediante dos análisis de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la primera utilizando primers universales para bacterias (DNA de suelo) y, la segunda, utilizando primers específicos para genes nif-H (DNA de suelos y cultivos). Luego, los productos obtenidos en ambas PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % y teñidos con bromuro de etidio. Estos análisis fueron realizados en el Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI-CONICET). Cuando se realizaron los cultivos de microorganismos fijadores de nitrógeno, estos dieron positivos para todas las muestras, en ambas técnicas utilizadas. También fue positiva la amplificación del DNA de suelo con primers universales. Cuando se utilizaron primers específicos para genes nif-H, las amplificaciones del DNA de suelo y de los repiques de las placas de suelo fueron positivas, no así las amplificaciones del DNA extraído de los cultivos en medio líquido. De esta forma se concluye en que los microorganismos que se lograron aislar mediante cultivo en placas de suelo, cuyas colonias tenían el morfotipo característico de *Azotobacter*, corresponderían a fijadores libres de nitrógeno.

Notas: 1-Becaria; 2-Directora