

## XIV Congreso Argentino de Microbiología General (XIV SAMIGE)

petróleo. La Biorremediación Mejorada con Surfactantes (BMS) es una técnica de bioestimulación que permite mejorar la disponibilidad de los hidrocarburos y otras sustancias hidrofóbicas y consiste, habitualmente, en la adición de surfactantes no biodegradables. En nuestro laboratorio se han aislado 5 cepas capaces de sintetizar compuestos tensioactivos, de los cuales los producidos por *Pseudomonas* sp. MM y *Pseudomonas* sp. ML fueron los que presentaron un mejor desempeño en cuanto a la disminución de la tensión superficial y la capacidad emulsificante. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de los compuestos tensioactivos producidos por *Pseudomonas* sp. MM y *Pseudomonas* sp. ML en la biodegradación de hidrocarburos llevados a cabo en microcosmos de suelo.

**Materiales y Métodos:** Las cepas bacterianas fueron cultivadas en medio mínimo con suplementado aceite de girasol durante 48 hs para luego obtener por centrifugación los sobrenadantes libres de células. Estos sobrenadantes fueron acidificados a pH 2 con HCl y luego de una centrifugación, los pellets conteniendo los biosurfactantes fueron resuspendidos en buffer TRIS-HCl 0.1mM PH 8 y sometidos a una partición con acetato de etilo. La fracción orgánica fue colectada y posteriormente liofilizada para obtener los extractos crudos ML (EC-ML) y MM (EC-MM). De cada extracto crudo se obtuvo la concentración micelar crítica (CMC). Para los ensayos de BMS se construyeron microcosmos con 10 g de tierra obtenida de un sitio crónicamente contaminado de la localidad del Cuartel V, Partido de Moreno, Bs. As., suplementado con 10% de diésel. Para analizar el efecto EC-ML y EC-MM se agregó a los microcosmos correspondientes el equivalente a 2 CMC. El diésel remanente se midió a los 30 días por cromatografía gaseosa.

**Resultados:** El ensayo de CMC dio un valor de  $612 \pm 8 \mu\text{g/ml}$  y  $317 \pm 11 \mu\text{g/ml}$  para EC-ML y EC-MM respectivamente, por lo que éste último resultaría ser más eficiente. En los ensayos en microcosmos de suelo, se observó que el agregado de EC-MM incrementó significativamente la degradación del diésel respecto al control en un 47% ( $P < 0,001$ ) mientras EC-ML produjo un aumento de la degradación del 13% respecto al control ( $P: 0,24$ ).

**Conclusiones:** En conclusión, se observó que el efecto del agregado de los biosurfactantes obtenidos mejora la degradación de los alcanos que conforman el diésel, por lo que biorremediación mejorada a través del agregado de los mismos es una posible alternativa para tratar suelos contaminados con hidrocarburos.

### MI 203

#### 0067 - APORTES EN LA ELUCIDACIÓN DE LA RESPUESTA PROMOVIDA POR *GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS* COMO BIOCONTROLADOR DE *RALSTONIA SOLANACEARUM* GMI1000

SREBOT, María Sol<sup>1</sup> | RODRIGUEZ, María Victoria<sup>1</sup> | ANSALDI, Nazarena<sup>1</sup> | TANO, Josefina<sup>2</sup> | CARRAU, Analía<sup>2</sup> | FERNANDEZ, Armando Eduardo<sup>1</sup> | MARTÍNEZ, María Laura<sup>1</sup> | CORTADI, Adriana Amalia<sup>1</sup> | ORELLANO, Elena Graciela<sup>2</sup>

FARMACOBOTÁNICA, ÁREA BIOLOGÍA VEGETAL-CONICET, FACULTAD DE CS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNR<sup>1</sup>; INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO (IBR-CONICET, FCBYF, UNR)<sup>2</sup>

**Introducción y Objetivos:** *Gluconacetobacter diazotrophicus* (*Gd*) es una bacteria endófito promotora del crecimiento vegetal (PGPBEs). La asociación planta-PGPBE beneficia a la planta hospedadora mediante la fitoestimulación, biofertilización y protección contra patógenos. *Ralstonia solanacearum* (*Rso*) es la bacteria responsable de la marchitez bacteriana en tomate, y causa enormes pérdidas económicas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción de *Gd*PAL5 como agente de biocontrol evaluando los mecanismos antagonistas de esta bacteria durante el estrés biótico producido por *Rso* GMI1000.

**Materiales y Métodos:** La motilidad bacteriana es de importancia en el proceso de colonización de la planta por parte del endófito, por eso se ensayaron las motilidades tipo *swimming*, *swarming* y *twitching* en placas de Petri con medio LGI-P con concentraciones diferentes de agar y se observó la migración de las bacterias y la morfología de los bordes de las colonias. Los ensayos de biocontrol se realizaron mediante estudios *in vivo* e *in vitro*. Plantas de *Arabidopsis thaliana* Col0 se inocularon con  $10^6$  UFC/mL de *Gd*, luego de 3 semanas, se inocularon por raíz con  $10^6$  UFC/mL de *Rso*. Luego de 12 días: I- Las plantas se esterilizaron superficialmente y extractos de los distintos órganos se sembraron en medios selectivos para cada bacteria. II- Se tomaron muestras a distintos días post inoculación con *Gd* y *Rso*, se fijaron en FAA, cortaron y tiñeron con safranina-*fast green* y azul de toluidina (1%). III- Se cuantificó colorimétricamente el contenido de clorofila a y clorofila b en hojas de plantas sometidas a distintos tratamientos. Además, se buscaron posibles compuestos antimicrobianos mediante experimentos *in vitro* ensayando la actividad antibacteriana de fracciones de cultivo de la bacteria endófito (medio extracelular, contenido celular y cultivo bacteriano), con la técnica de superposición con soft agar.

**Resultados:** Bajo las condiciones ensayadas *Gd* presentó motilidad tipo *swarming*, que le permite una migración rápida y coordinada, que junto a la producción de exopolisacáridos juegan un rol sustancial en la interacción con la planta. Los ensayos de biocontrol *in vivo* muestran: a) estructuras anatómicas del tallo más conservadas en plantas con *Gd* evidenciándose aumento de xilema, mayor lignificación y mayor cantidad de tejido esclerosado entre los haces vasculares; b) técnicas histoanatómicas y los resultados de recuentos

## XIV Congreso Argentino de Microbiología General (XIV SAMIGE)

bacterianos revelaron mayor proliferación del fitopatógeno en plantas no tratadas con *Gd*; c) A su vez, se observó una concentración menor de pigmentos en plantas no inoculadas con *Gd*. En los ensayos *in vitro* se evidenció actividad antagonista de la fracción celular del cultivo de *Gd* contra *Rso*.

**Conclusiones:** Los resultados del presente trabajo muestran que *Gd* coloniza las plantas de *A. thaliana* ejerciendo un rol protector frente a *Rso*.

### MI 204

#### 0072 - CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA Y GENÉTICA DEL ANTAGONISMO ANTE EL HONGO FITOPATÓGENO *MACROPHOMINA PHASEOLINA*, EN EL AISLAMIENTO NATIVO SVBP6 PERTENECIENTE A LA NUEVA ESPECIE *PSEUDOMONAS DONGHUENSIS*.

MUZIO, Federico Matías | AGARAS, Betina | VALVERDE, Claudio

UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES - CONICET

**Introducción y Objetivos:** El desarrollo y formulación de nuevos inoculantes bacterianos constituye una sólida estrategia a la hora de mejorar la productividad agrícola de la región y disminuir el impacto ecológico debido al uso de pesticidas. En esta línea, nuestro laboratorio obtuvo una colección de aislamientos bacterianos del género *Pseudomonas* provenientes de lotes agrícolas de la región. Entre ellos se destaca el aislamiento SVBP6, perteneciente a la especie *Pseudomonas donghuensis*, por su amplio espectro de antagonismo fúngico. Sin embargo, el genoma de SVBP6 carece de los determinantes genéticos asociados al control biológico de otras especies de *Pseudomonas*, como los clusters génicos para la producción de diacetilfluoroglucinol, fenazinas o lipopéptidos (Agaras *et al* 2018, doi:10.1016/j.apsoil.2011.11.016). Esto vuelve a SVBP6 un candidato interesante para la identificación de nuevas moléculas o mecanismos intervinientes en el antagonismo de hongos fitopatógenos en el suelo. El objetivo de este trabajo ha sido caracterizar fisiológica y genéticamente la producción del/de los factor/es determinantes del antagonismo fúngico en SVBP6.

**Materiales y Métodos:** Mediante mutagénesis al azar mediada por transposón Tn5 se obtuvo una colección de aproximadamente 60 mutantes de la cepa SVBP6, seleccionados a partir de la pérdida de capacidad antagonista frente al hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* 131.2010. Llamativamente, se detectaron 6 inserciones localizadas en un mismo clúster génico, cuya región homóloga ha sido descrita en el aislamiento *P. donghuensis* HYS como relacionado a la biosíntesis de 7-hidroxitropolona (7-HT) (Chen *et al* 2018, doi:10.1128/JB.00087-1). Con estos mutantes y la versión salvaje, se realizaron cultivos líquidos en medio King's B, cuyo espectro de absorbancia UV-visible fue analizado. El sobrenadante del cultivo fue utilizado para realizar extracciones en acetato de etilo y ensayos de antagonismo vs *M. phaseolina* 131.2010, adicionando el sobrenadante y/o extracto a agar papa dextrosa.

**Resultados:** Constatamos que el sobrenadante libre de células de SVBP6 en fase exponencial tardía retiene la actividad antagonista de hongos y posee picos de absorción UV compatibles con los de 7-HT, en contraste a todos los mutantes Tn5 del cluster identificado, los cuales revelaron una marcada reducción de los picos UV correspondientes, sugiriendo una asociación entre los genes interrumpidos en los mutantes, el antagonismo a *M. phaseolina* y la producción de 7-HT por parte de SVBP6. La producción de al menos un compuesto compatible con 7-HT se activa en fase exponencial media en medio King's B, alcanzando un máximo en la fase exponencial tardía. Se logró extraer la actividad antagonista y su patrón de absorción UV, siendo este extracto capaz de restaurar el antagonismo en un sobrenadante de un mutante Tn5 incapaz de producir 7-HT. La capacidad del extracto conteniendo 7-HT de disminuir el crecimiento de *M. phaseolina* resultó directamente proporcional a la dosis ensayada.

**Conclusiones:** Los resultados obtenidos indican que el aislamiento *P. donghuensis* SVBP6 produce al menos una molécula relacionada a 7-HT, que es un factor preponderante del antagonismo *in vitro* ante *M. phaseolina*, lo cual podría replicarse en el antagonismo por parte de SVBP6 a otros hongos fitopatógenos.

### MI 205

#### 0107 - PERFIL PROTEÓMICO DEL HONGO DE PUDRICIÓN BLANCA *PLEUROTUS SAJOR-CAJU* LBM 105 EN CONDICIONES DE REMOCIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS Y SU IMPLICANCIA COMO AGENTE BIORREMIADOR

CHELALICHE, Anibal Sebastian | ALVARENGA, Adriana Elizabet | ZAPATA, Pedro Dario | FONSECA, Maria Isabel

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA MISIONES