

RESULTADOS

- El INIAP dispone de un banco de germoplasma de la bacteria del género "*Bradyrhizobium*" para el cultivo de maní.
- El resultado del análisis fenotípico de las cepas asociadas al maní identificó aislamientos que presentan características fenotípicas similares a cepas del género *Rhizobium*.
- Los resultados de las pruebas genéticas mostraron gran heterogeneidad entre los aislamientos.
- El ensayo en invernadero generó las siguientes cepas como las mejores: *ECUM L45*; *ECUM P8-6*; *ECUM L102* y *ECUM L8-1*.
- El estudio de campo dio como resultado que las cepas *ECUM P8-6* y *ECUM L102* fueron las más eficientes; estas cepas son consideradas aptas para la elaboración de inoculantes a ser entregados al agricultor. Las cepas seleccionadas registraron los siguientes rendimientos: 1393.30 kg/ha y 1318.79 kg/ha respectivamente versus 1247.92 kg/ha del tratamiento nitrogenado.

CONCLUSIONES

- El estudio ha permitido conformar un banco de germoplasma de la bacteria "*Bradyrhizobium*" con cepas eficientes para el cultivo de maní.
- La caracterización de la bacteria demuestra la presencia de la alta diversidad biológica en la colección. Esto implica que podría existir especificidad entre ambos simbiontes; por lo tanto, se deben usar inoculantes con cepas aisladas de suelos de origen de la leguminosa huésped.
- Las cepas seleccionadas fueron altamente eficientes en fijación biológica de nitrógeno con relación al testigo nitrogenado que fue estadísticamente similar y superior al testigo sin inocular (0), tanto en rendimiento como en contenido de nitrógeno de la parte aérea (%).

Mayor información

Estación experimental Santa Catalina
Panamericana Sur Km. 1 vía Quito-Aloag
Teléfonos: 2690-693 / 2697-496



Departamento Nacional de
Protección Vegetal

Selección de bacterias eficientes en fijación biológica de nitrógeno, para producción de inoculante en maní

Mauricio Jerez. Ing. Agr.
Gustavo Bernal. Ing. Agr. Ph. D.



Maní-Rhizobium

La superficie cultivada de maní en el Ecuador es de 7,624 ha (INEC, 2001), con un rendimiento de 661 kg/ha. Una de las causas de este bajo rendimiento se debe a la deficiencia nutricional principalmente el nitrógeno en los suelos donde se lo cultiva. EL cultivo de maní es de alta importancia económica y alimenticia en las provincias de Manabí y Loja. El grano posee entre 45-50% de grasa y 25-30 % de proteína. Se consume en forma cruda, tostada o en una gran variedad de confituras. La parte aérea de la planta también es aprovechada como alimento para cerdos y ganado bovino. Además, constituye un excelente abono verde para ser incorporado en el suelo.

El maní como la mayoría de las leguminosas, tiene la capacidad de formar una simbiosis con los "rizobios" que son bacterias fijadoras del nitrógeno atmosférico, localizadas en nódulos formados en la raíz. El nitrógeno, una vez convertido en forma asimilable para la planta contribuye con el desarrollo vegetal, y por lo tanto con el rendimiento del cultivo. Para que el proceso de fijación del nitrógeno sea efectivo se requiere de bacterias altamente fijadoras de nitrógeno, las mismas que deben ser nativas de cada región, por estar estas más adaptadas a las condiciones edafo-climáticas.

A continuación se describe la metodología utilizada para la selección, caracterización y evaluación en invernadero y campo de las bacterias *rhizobium*.

Selección de bacterias

El estudio se inició con la colección de muestras de suelos y raíces de cultivos sembrados en las provincias de Manabí y Loja. Los "rizobios" fueron aislados y purificados de acuerdo a las metodologías estándares establecidas en el Departamento de Protección Vegetal (DNPV) del INIAP. Las cepas fueron almacenadas por liofilización antes de su caracterización fenotípica y genética.

Caracterización fenotípica

Se caracterizó fenotípicamente 77 aislamientos nativos que fueron comparados con 16 cepas de referencia provenientes de centros internacionales de rizobiología (CIAT, NifTal, U. Minnesota). El crecimiento de las cepas fue evaluado usando los medios de cultivo: levadura manitol

agar (LMA) con el indicador rojo congo, LMA-azul de bromotimol, glucosa peptona agar (GPA) con púrpura de bromocresol. Se determinó el tiempo de crecimiento, morfología de las colonias, acidificación o alcalinización, resistencia a los antibióticos: ácido nalidíxico, estreptomina, espectinomicina, kanamicina; la tolerancia a los metales: Pb, Al, Zn, Cu; tolerancia a NaCl (0,5%; 1,0%; 2,0%); y tolerancia a pH 4,5; 5,0; y 8,5; todos fueron evaluados en medio triptona levadura agar. Las fuentes de carbono y nitrógeno incluyeron sorbosa, tartrato, D-glucoronic, eritritol, dulcitol, citrato, lactato, glicina, triptófano, y tirosina, cada una a una concentración final de 1g/l. La presencia (1), o ausencia (0) de crecimiento de las cepas en los diferentes medios de cultivo se registró en una matriz de datos binarios (Applied Biostatistics Inc, 1998), para la generación del dendograma y la comparación fenotípica entre los aislamientos.



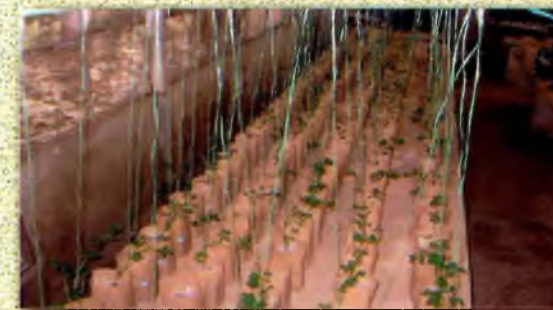
Caracterización genotípica

Del análisis fenotípico se seleccionaron 29 aislamientos representativos de los grupos generados en el dendograma. Luego del aislamiento del ADN de cada cepa, mediante el método de resina (Chelex 100, BIO-RAD), se procedió al análisis molecular del genoma bacteriano utilizando los métodos: a) rep-PCR (cebadores REP y ERIC) y b) PCR-RFLP de la región intergénica 16S-23S rRNA, utilizando las enzimas de restricción (*Msp1*, *TAQ I*, *Hae III*, *RsaI*, *AluI*).

Selección en invernadero

La eficiencia en fijación de nitrógeno de las cepas se probó en Jarras Magenta las que contenían sustrato estéril y semillas de maní (variedad Caramelo) pre-germinadas bajo condiciones asépticas. Se evaluaron 42

cepas, y se incluyeron los controles nitrogenado (0.05% NO₃K) y absoluto (0). Al inicio de la floración se midieron las variables: materia verde (g/planta), materia seca (g/planta) y número de nódulos, para el análisis estadístico que permitió seleccionar a las mejores bacterias para el estudio de campo.



Ensayo de eficiencia simbiótica en invernadero (EETP)

Estudio de campo

En condiciones naturales se evaluó la eficiencia de las cepas resultantes de la selección en invernadero. Se evaluaron cuatro cepas consideradas las mejores frente a dos variedades de maní (*Caramelo* e *INIAP 380*). Se incluyeron los controles: nitrogenado-urea (80 kg/h, a la siembra y a los 30 días), y absoluto (sin inoculación y sin fertilización nitrogenada). Se realizó la evaluación de la capacidad fijadora de nitrógeno de acuerdo a las variables: materia verde (kg/mata), materia seca (kg/mata), masa de nódulos (kg/mata), concentración de nitrógeno en el follaje y rendimiento (kg/ha), los mismos que fueron sometidos a un análisis estadístico.



Ensayo de eficiencia simbiótica en campo (El Almendral-Loja)