

RESUMEN

Se aislaron cepas de rizobios a partir de nódulos de raíces de cinco plantas leguminosas, arveja (*Pisum sativum* L.), chocho (*Lupinus mutabilis* S.), fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), haba (*Vicia faba* L.) y vicia (*Vicia* sp.) de suelos de la provincia de Imbabura, Ecuador. Además, cepas de rizobios pertenecientes al banco de rizobiología del INIAP, se reactivaron de su estado de liofilización, y otras se refrescaron de su estado de vejez; con el propósito de caracterizarlas morfológica y bioquímicamente, para identificar el género y formar un cepario de rizobios. Los nódulos recolectados fueron evaluados según sus características, encontrándose desde formas redondas hasta pleomórficas, tamaños y cantidades variadas, y amplia distribución en raíces secundarias principalmente. Una vez aislados los rizobios de los nódulos, se sembraron y purificaron en medio levadura manitol agar (LMA) + rojo congo (RC). Se realizaron pruebas de autenticación y pureza, observándose bacilos cortos Gram negativos, con reacción ácida y una sola cepa con reacción alcalina en los medios LMA + púrpura de bromocresol (PCB) y LMA + azul de bromotimol (ABT), y sin cambio de coloración en los medios glucosa peptona agar (GPA) + PBC y levadura lactosa agar (LLA) + reactivo de Benedict (RB), excepto por dos cepas de *Agrobacterium*. El análisis de conglomerados de la caracterización morfológica y bioquímica clasificó a las cepas de rizobios asociados a los cultivos de arveja en siete y once grupos, de chocho en seis grupos, de fréjol en seis y trece grupos, de haba en cinco y once grupos, y de vicia en cuatro y ocho grupos, respectivamente. Para la morfología, se tuvo en cuenta la textura, cantidad de goma, elevación, apariencia, margen, color, tamaño y forma de las colonias; y para la bioquímica, la asimilación de fuentes de carbono y nitrógeno, y tolerancia a varios niveles de pH, antibióticos, metales pesados, concentraciones de salinidad y de urea. Los resultados señalaron que los rizobios asociados a los cultivos de fréjol, arveja, haba y vicia pertenecen al género *Rhizobium*, los rizobios asociados a los cultivos de chocho pertenecen al género *Ochrobactrum* y uno al género *Bradyrhizobium*. Se identificaron catorce cepas de rizobios capaces de crecer mejor en ambientes hostiles, las cuales tienen un uso potencial como bioinoculantes. Esto afianza la posibilidad de establecer estudios que permitan evaluar en una etapa de invernadero y campo el potencial de fijación de nitrógeno de las cepas caracterizadas.

Palabras clave: leguminosas, nodulación, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Ochrobactrum*.

ABSTRACT

Rhizobia strains were isolated from root nodules of five legumes plants, pea (*Pisum sativum* L.), lupine (*Lupinus mutabilis* S.), bean (*Phaseolus vulgaris* L.), broad bean (*Vicia faba* L.) and vetch (*Vicia* sp.) from Imbabura province soils, Ecuador. Also, rhizobia strains belonging to INIAP rhizobiology bank, were reactivated from its lyophilization state and other strains were refreshed from its old age. Rhizobia were characterized morphologically and biochemically in order to identify the genera to establish a rhizobia strain collection. Nodules collected were evaluated according to their characteristics, from round to pleomorphic forms, varying sizes and amounts, and wide distribution in secondary roots mainly. Once rhizobia strains were isolated from the nodules, they were cultured and purified in yeast mannitol agar medium (YMA) + congo red (CR). Authentication and purity tests were performed, short Gram negative bacilli were observed. It was observed acid reactions and a single strain with alkaline reaction in YMA + bromocresol purple (BCP) and YMA + bromothymol blue (BTB) mediums, and no color change in glucose peptone agar (GPA) + BCP and yeast lactose agar (YLA) + Benedict reagent (BR) mediums, except for two *Agrobacterium* strains. The morphological and biochemical characterization cluster analysis classified rhizobia strains associated with pea crops in seven and eleven clusters, with lupine crops in six clusters, with bean crops in six and thirteen clusters, with broad bean crops in five and eleven clusters and with vetch crops in four and eight clusters, respectively. For morphology, it was taken into account texture, gum amount, elevation, appearance, margin, color, size and shape of colonies; and for biochemistry, absorption of carbon and nitrogen sources, and tolerance to various pH levels, antibiotics, heavy metals, salinity and urea concentrations. The results indicated that rhizobia strains associated with pea, bean, broad bean and vetch crops belong to the *Rhizobium* genus. The rhizobia strains associated with lupine crops belong to the *Ochrobactrum* genus and one strain to *Bradyrhizobium* genus. Fourteen strains were identified as able to grow better in hostile environments; they have potential use as bioinoculants. This strengthens the possibility to establish studies that allow evaluating in a greenhouse and field stage the potential nitrogen fixation of the characterized strains.

Key words: legumes, nodulation, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Ochrobactrum*.