



La biodiversidad como insumo de las agrobiotecnologías

Ada Susana ALBANESI¹

Resumen: Reflexionamos acerca de la diversidad microbiana edáfica como insumo de las agrobiotecnologías, sus implicancias en las relaciones entre organismos y sus consecuencias ecológicas y económicas, indicando la complejidad evolutiva y la homología entre componentes de diferentes redes, beneficioso para la biotecnología (procedimientos, normas regulatorias, etc.) bajo el paradigma de la diversidad de grupos funcionales. Nos preocupamos porque los recursos del suelo están siendo vistos como una prioridad de segundo nivel y no existe un órgano de gobierno nacional que coordine iniciativas para asegurar que los suelos estén representados en los diálogos de biodiversidad, cambio global y en la toma de decisiones

Palabras-claves: diversidad microbiana edáfica – agrobiotecnologías - cambio global

Abstract: this essay reflects about the soil microbial diversity as an input of agricultural biotechnology and its implications in the relations between organisms and their ecological and economic consequences, indicating evolutionary complexity and homology of components between different networks, beneficial for Biotechnology (procedures, regulatory standards, etc.) under the paradigm of diversity of functional groups. We care because land resources are being seen as a second-tier priority and there is no national governing body to coordinate efforts to ensure that soils are represented in the dialogues of biodiversity, global change and decision-making

Keywords: soil microbial diversity - agricultural biotechnology - global change

Los microorganismos mueven el mundo
Louis Pasteur

La biodiversidad es fundamental para la seguridad alimentaria y la nutrición y la frase transcripta, acuñada por el Dr. Louis Pasteur, nos permite reflexionar acerca de la diversidad microbiana como insumo de las agrobiotecnologías y sus implicancias.

Los microorganismos son fuente y destino de materia y energía como cualquier organismo vivo y cumplen un rol estructural y funcional en el entramado multivariado y multifactorial de las relaciones entre organismos y sus consecuencias ecológicas y económicas.

El suelo es uno de los componentes de los ecosistemas de mayor importancia en la sostenibilidad y de mayor diversidad microbiana. El suelo puede contener hasta 10²⁹ organismos de ADN circular por g (ADN circular se asume al concepto de procariotas) y se encuentra tres veces más de nitrógeno y fósforo en la biomasa microbiana del suelo que estos nutrientes en la vegetación.

El suelo es uno de los componentes con mayor diversidad filogenética y fisiológica, alberga una cuarta de la diversidad del planeta y esa biota cumple roles esenciales en la circulación de la materia y en el suministro de nutrientes, en la estructuración del suelo, en la regulación de los procesos hidrológicos y de intercambio gaseoso, en la desintoxicación del suelo, en la eliminación de plagas y enfermedades, en las interacciones mutualistas con plantas y en el crecimiento vegetal para optimizar el crecimiento y desarrollo vegetal.

Aun cuando es sabido que los microorganismos desempeñan un rol clave en el funcionamiento del ecosistema, nuestro conocimiento de la diversidad microbiana del suelo estuvo

¹ Ingeniera Agrónoma y Magister. Profesor Titular Regular Microbiología Agrícola y Ecología en la Facultad de Agronomía y Agroindustrias. E-mail: adaalbanesi@gmail.com; albanesi@unse.edu.ar



limitado en parte por nuestra inhabilidad para el estudio de los microorganismos del suelo. Se estima que en 1 g de suelo hay 4.000 bacterias diferentes “unidades genómicas” basado en análisis de reasociación ADN-ADN. Solo el 1% de la población de bacterias del suelo pueden ser cultivadas en condiciones estándares de laboratorio. Existen cerca de 1,5 millones de especies de hongos en el mundo (Giller et al., 1997), pero al igual que las bacterias, menos del 1% pueden ser cultivados en laboratorio (van Elsas et al., 2000).

Avances en las tecnologías basadas en ADN permiten que la estructura de las comunidades microbianas y sus cambios puedan ser inferidos mediante una variedad de métodos, de los cuales las técnicas de fingerprint permiten una replicación ecológica adecuada. Fingerprints pueden ser derivados de lo que se considera comunidad total, vía ADN, o de la comunidad activa, vía ARN (Mengoni et al., 2005). Las técnicas moleculares permitieron acceder a la diversidad total de microorganismos del suelo. Estas técnicas que utilizan ácidos nucleicos extraídos directamente de muestras ambientales permiten el análisis de la comunidad y su uso caracteriza el momento de la investigación en el siglo XXI, por lo cual este período podría ser denominado “Segunda Edad de Oro de la Microbiología de Suelo” (Nannipieri & Eldor, 2009).

Para acceder a la diversidad total de microorganismos del suelo, es decir, cultivables y no cultivables, es necesario focalizarnos en la extracción de ADN microbiano de modo tal que la calidad del mismo garantice una exitosa amplificación por PCR para cebadores específicos, y que represente lo mejor posible el ADN en la muestra original. Hay una variedad de métodos publicados para la extracción de ADN de muestras de suelo. También hay en disponibilidad kits comerciales para extracción y purificación de ADN, que son fáciles de usar y considerablemente reproducibles.

La mayoría de los autores reportaron las ventajas de sus respectivos métodos comparado con los reportados previamente. Sin embargo, ninguno de los métodos publicados hasta el momento es universalmente aplicable, por lo que se requiere la optimización de la extracción y purificación de ADN (Rajendhran & Gunasekaran, 2008).

Dado que el 99% de los microorganismos presentes en suelo no se pueden cultivar en laboratorio, se utilizan herramientas que estudien el genoma de todos los miembros de la comunidad (Metagenoma). La región más estudiada es la correspondiente a los genes codificantes de los ARN ribosomales (denominada ADN_r). El análisis del gen ADN_r 16S ha sido usado extensivamente para estudiar la diversidad de procariontes como así también para identificar y establecer relaciones filogenéticas. El ADN_r18S y el espaciador transcrito interno (ITS) son regiones ampliamente usadas para estudiar comunidades de hongos (Kirk et al., 2004).

Aunque existen cronómetros moleculares alternativos al ARN_r, hasta el momento ninguno ha conseguido desplazarlo. De hecho, esta macromolécula presenta una serie de características, en base a las cuales fue considerado por Woese como el cronómetro molecular definitivo (Rodicio & Mendoza, 2004).

Muchos de los procedimientos moleculares que se desarrollaron para analizar la estructura de las comunidades microbianas en muestras ambientales hacen uso de una primera etapa en la que a partir de la totalidad de los genomas (ADN ambiental) se obtiene mediante amplificación por PCR, los fragmentos correspondientes al ADN_r. En una segunda etapa se estudia la diversidad de estos fragmentos mediante diferentes metodologías: bibliotecas de ADN_r, DGGE, tRFLP, RFLP, SSCP, RISA, ARISA. En la actualidad se emplea cada vez más la secuenciación directa, como la pirosecuenciación, dado que el costo de este análisis se ha visto reducido debido al avance de los procedimientos de secuenciación de nueva generación (Next generation sequencing).

Aun cuando con las técnicas descriptas podamos conocer con que diversidad contamos, nuestro conocimiento de cómo es el funcionamiento de los sistemas de regulación y evolución



es todavía relativamente limitado ya que los microorganismos del suelo han evolucionado en complejas redes reguladoras que permiten la integración de múltiples señales intracelulares y extracelulares para coordinar respuestas a los cambios del ambiente. A menudo hay una extensa homología entre componentes de diferentes redes, debido a los ciclos anteriores de la duplicación, la divergencia y la transferencia horizontal de genes, aumentando la posibilidad de diafonía o redundancia (Taylor et al., 2015). Este aspecto, desde una mirada antrópica es muy beneficioso ya que nos permite sostenernos en biotecnología (procedimientos, normas regulatorias, etc.) en el paradigma de la diversidad de grupos funcionales.

A modo de ejemplo, las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (PGPB, su sigla en inglés: Plant Growth Promoting Bacteria) son un grupo de diferentes géneros bacterianos promisorias en los enfoques biotecnológicos tendientes a lograr una adecuada provisión de nutrientes de las plantas, reduciendo los efectos ambientales negativos de los fertilizantes y con capacidad de incrementar el crecimiento y productividad vegetal. Entre los géneros más conocidos figuran *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, y *Azospirillum*. Ellas promueven el crecimiento de las plantas mediante distintos mecanismos (e.g., fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de hormonas y sideróforos, actividad ACC desaminasa, etc.) o mediante el control biológico inhibiendo o suprimiendo a los fitopatógenos (Bashan & de Bashan, 2010; Cassán et al., 2013). El segundo ejemplo de herramienta biotecnológica lo constituyen los hongos micorrícicos ya que el uso de estos microorganismos es de gran importancia porque son organismos del suelo que viven simbióticamente con la mayoría de plantas (Dominguez Nuñez et al., 2015). Otro ejemplo lo constituye *Trichoderma harzianum* hongo que es usado como fungicida en aplicaciones foliares, tratamiento de semillas y suelo para el control de diversas enfermedades. También se utiliza para la fabricación de enzimas.

La inscripción y normatización de fertilizantes biológicos en Argentina es reglamentada por la Resolución N° 310-94 de la SAGyP encuadrada en la previsión del artículo 16 de la Ley Nacional N° 20466. Con ello se procede a “la inscripción de las firmas elaboradoras, fraccionadoras, importadoras o distribuidoras de fertilizantes biológicos”. El organismo Responsable lo constituye el Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SENASA) a través de la Dirección de Agroquímicos, Productos Farmacológicos y Veterinarios y de la Coordinación General de Agroquímicos y Biológicos. La normativa específica sobre el trámite de habilitación y control de calidad de inoculantes comercializados está regulada por la Ley 20.466; el Decreto 4.830/73; el Decreto 1624/80; la Resolución SAG 66/73; y las Resoluciones SAGYP 310/94, 410/94 y 422/04.

De todas maneras, hoy el suelo está bajo presión. El renovado reconocimiento del papel central de los recursos del suelo como base para la seguridad alimentaria y la provisión de servicios de ecosistemas clave, incluyendo la provisión de genes y la adaptación y mitigación del cambio climático ha dado lugar a numerosos proyectos, iniciativas y acciones regionales e internacionales, justamente en el año mundial de los suelos (2015). A pesar de estas numerosas actividades emergentes, los recursos del suelo están siendo vistos como una prioridad de segundo nivel y no existe un órgano de gobierno nacional ni internacional que abogue por coordinar iniciativas para asegurar que el conocimiento y el reconocimiento de los suelos estén representados adecuadamente en los diálogos de biodiversidad, cambio global y en los procesos de toma de decisiones.

Al mismo tiempo, existe la necesidad de coordinación y colaboración para crear una voz unificada y reconocida por la diversidad de suelos y evitar la fragmentación de esfuerzos y el desperdicio de recursos. Se han creado numerosos organismos y dependencias institucionales a nivel nacional e internacional, entre ellas la Asociación Mundial de Suelos, bajo el supuesto de que manteniendo suelos saludables necesarios para alimentar a la creciente población del mundo y satisfacer sus necesidades para la biomasa (energía), fibra, forraje y otros productos sólo puede garantizarse a través de una asociación fuerte.



Pero se olvidaron de la biota del suelo como proveedor de base biotecnológica para el mismo objetivo, entendiendo por **biotecnología** toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos según lo definido en el Convenio sobre Diversidad Biológica, 1992 y ratificado en el Protocolo de Nagoya, 2010 (que entró en vigencia en 2014), los cuales regulan los aspectos vinculados a la biodiversidad en el mundo y particularmente en Argentina. También se olvidaron de aspectos vinculados a la bioseguridad y a la biocustodia, entendiendo por **bioseguridad** o seguridad biológica al término utilizado para referirse a los principios, técnicas y prácticas aplicadas con el fin de evitar la exposición no intencional a patógenos y toxinas, o su liberación accidental y **biocustodia** a las medidas de protección de la institución y del personal destinadas a reducir el riesgo de pérdida, robo, uso incorrecto, desviaciones o liberación intencional de patógenos o toxinas.

A nivel nacional el gran interrogante es quien es el dueño de los sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados cuando el proveedor es el suelo? En casi la totalidad del país no existen mecanismos ajustados de control ni leyes y espacios institucionales que regulen y controlen la provisión de recursos genéticos del suelo para la biotecnología. Cualquiera puede tomar una muestra de suelo de cualquier lugar del país y trasladarla internamente o a otros países porque “tierra molida” puede ser tomada como “piedra molida” y al ser considerado material inerte no se aplican los mecanismos regulatorios pertinentes.

Por todo lo expuesto, las acciones vinculadas a la temática debieran aunar esfuerzos públicos y privados para crear mecanismos regulatorios y conciencia ciudadana, respeto por la diversidad en los diferentes ecosistemas, etnias y provincias.

Aun cuando los microorganismos mueven el mundo, la diversidad total de microorganismos del suelo es enorme y existe redundancia funcional, el suelo es un recurso no renovable y la provisión de recursos genéticos del suelo para la biotecnología tiene dueños y su extracción y uso debiera regularse y controlarse.

Referencias bibliográficas

- Bashan, Y, de-Bashan L (2010) How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth. A Critical Assessment. *Adv Agron* 108: 77-136.
- Cassán et al., 2013. Aspectos bioquímicos, fisiológicos y agronómicos de la producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. En: *Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación en Argentina*. Albanesi A. (ed). 2° ed. 329:350.
- Dominguez Nuñez, J.A., Berrocal Lobo & A. Albanesi. 2015. Interaction of *Azospirillum* and mycorrhiza. In: *Everything practical you always wanted to know about Azospirillum sp. but were afraid to ask*. Cassán F., Y. Okon, C. Creus (eds). Edit. Springer.
- Giller, K., M. Beare, P. Lavelle A. Iza, M. Swift. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Appl. Soil Ecol.* 6: 3–16.
- Mengoni, A., E. Tatti, F. Decorosi,, C. Viti,, M. Bazzicalupo, L. Giovannetti., 2005. Comparison of 16S rRNA and 16S rDNA T-RFLP approaches to study bacterial communities in soil microcosms treated with chromate as perturbing agent. *Microbial Ecology* 50: 375-384.
- Nannipieri, P., P. Eldor. 2009. The chemical and functional characterization of soil N and its biotics components. *Soil biology and biochemistry* 41: 2357-2369.
- Rajendhran, J., P. Gunasekaran. 2008. Strategies for accessing soil metagenome for desired applications. *Biotechnology Advances* 26: 576–590.
- Rodicio, M.R., M.C Mendoza. 2004. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004;22(4):238-45)
- Taylor, T. B., G. Mulley, L.J. McGuffin, L. Johnson , M. A. Brockhurst, T. Arseneault, M. W. Silby, R. W. Jackson. Evolutionary rewiring of bacterial regulatory networks. *Ciencia* (2015), 347 (6225). Vol. 2 No. 7 .
- van Elsas, J., G. Frois-Duarte, A. Keijzer-Wolters., E: Smit. 2000. Analysis of the dynamics of fungal communities in soil via fungal- specific PCR of soil DNA followed by denaturing gradient gel electrophoresis. *J. Microbiol. Methods* 43: 133–151