



## Los microorganismos del suelo y la biotecnología en la agricultura

El suelo constituye un sistema complejo que alberga una gran riqueza de microorganismos, los cuales establecen relaciones muy variadas y contribuyen a conformar las características propias del suelo, participan en los ciclos del carbono, nitrógeno, oxígeno, azufre, fósforo, hierro y otros metales; aportan a la fertilidad del suelo y a la degradación de compuestos xenobióticos (cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el hombre). Además, el crecimiento de las plantas está condicionado por una amplia gama de microorganismos que viven en el suelo, alrededor de las raíces vegetales. Dentro del amplio grupo de microorganismos beneficiosos, tanto para cultivos agrícolas como forestales, se pueden diferenciar:

- ü los que solubilizan o incrementan la absorción de nutrientes, aumentando la fertilidad del suelo y estimulando el crecimiento vegetal,
- ü los que protegen a la planta o evitan el ataque de patógenos

Estos, a su vez, pueden ser:

- ü bacterias de vida libre o simbióticas que fijan nitrógeno
- ü hongos micorrízicos que se asocian con las raíces de plantas vasculares.

Actualmente se manifiesta una tendencia a favor del ambiente en cuanto a la reducción del uso de fertilizantes químicos y plaguicidas en general, y una mayor sensibilización social sobre el potencial riesgo de su empleo indiscriminado. Esto ha abierto nuevas perspectivas en el empleo de productos biológicos para el manejo integrado de la agricultura, sobre todo en la protección de cultivos (biocontrol) y como fertilizantes “amigos” del medioambiente (biofertilizantes). En tal sentido, diferentes empresas e institutos de investigación vienen trabajando en el estudio de los microbios del suelo (microbiota), y en la compleja interacción planta-microorganismo. La integración de técnicas de estudio de la microbiología tradicional, junto con metodologías moleculares, incluyendo los avances en las técnicas de genómica, contribuirá a un mejor conocimiento del funcionamiento de las comunidades microbianas del suelo con el consiguiente potencial de aplicación biotecnológica.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



## La fijación del nitrógeno

El nitrógeno es fundamental

para la vida de las plantas. Pero, a pesar de encontrarse en gran cantidad en forma libre en la atmósfera ( $N_2$ ), su disponibilidad para las plantas es limitada ya que no es fácilmente asimilable por los organismos. Por eso, la agricultura

depende en gran medida del uso de fertilizantes químicos para mantener altas producciones agrícolas.

El proceso de fijación del  $N_2$  atmosférico, es decir, la reacción del  $N_2$  con otros elementos para formar un compuesto químico que lo contenga, puede lograrse mediante métodos químicos y métodos biológicos:

métodos químicos: la fijación puede ocurrir por procesos químicos espontáneos, como la oxidación que se produce por la acción de los rayos, que forma óxidos de nitrógeno que, al reaccionar con el agua de lluvia, origina ácido nítrico. Este ácido reacciona con el amoníaco ( $NH_3$ ) del aire para producir nitrato de amonio ( $NO_3NH_4$ ). De esta forma mediante las precipitaciones llega al suelo una modesta cantidad de nitrógeno.

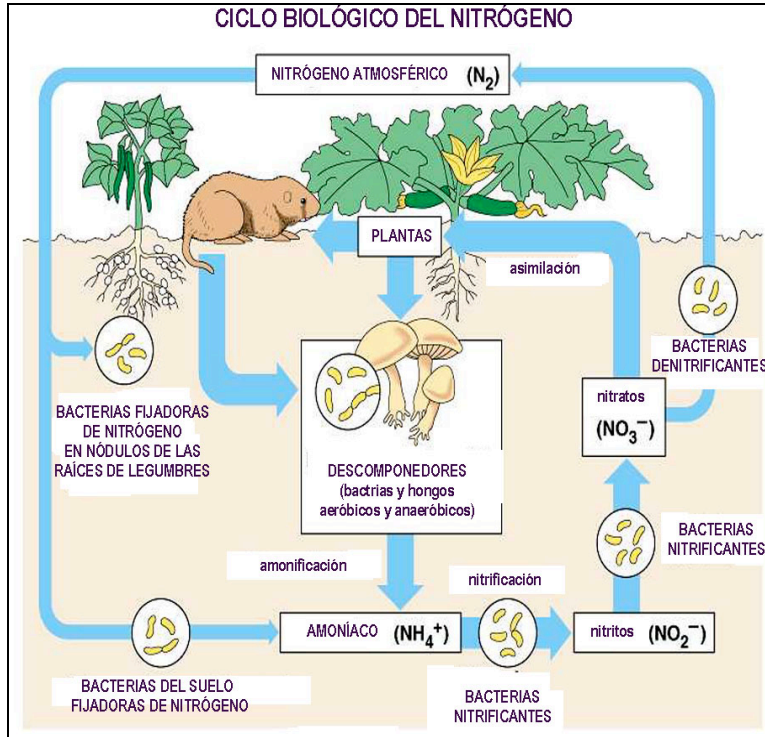
métodos biológicos: algunos microorganismos procariotas (bacterias y cianobacterias) tiene la capacidad de atrapar y aprovechar el nitrógeno de la atmósfera, es decir, de llevar a cabo el proceso de **fijación biológica de nitrógeno (FBN)**. La manera de usar el nitrógeno ( $N_2$ ) de la atmósfera es llevar a cabo una reacción química donde se rompen los enlaces entre los átomos de nitrógeno (N) y se incorporan átomos de hidrógeno para fabricar amoníaco ( $NH_4^+$ ), un compuesto que los organismos sí son capaces de procesar metabólicamente. Las bacterias fijadoras de nitrógeno poseen una enzima llamada *nitrogenasa*, que es la encargada de la ruptura del triple enlace del nitrógeno molecular y de la formación de amoníaco

Los procesos naturales de fijación biológica del  $N_2$  juegan un papel importante en el desarrollo de sistemas sustentables, agronómica y ambientalmente.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



La fijación de nitrógeno origina compuestos solubles a partir de  $N_2$ , y la **denitrificación**



devuelve  $N_2$  a la atmósfera (donde constituye el 79% del aire atmosférico).

Los autótrofos reducen el nitrógeno oxidado que reciben como nitrato ( $NO_3^-$ ) a grupos amino en el proceso de **asimilación**. Para volver a contar con nitrato hace falta que los descomponedores lo extraigan de la biomasa dejándolo en la forma reducida de ion amonio ( $NH_4^+$ ), proceso que se llama **amonificación**. Luego el amonio es oxidado a nitritos y nitratos, en el proceso de **nitrificación**.

Fuente: Imagen traducida extraída de <http://www.epa.gov/maia/html/nitrogen.html>

## Microorganismos fijadores de nitrógeno atmosférico

Existen diferentes tipos de microorganismos procariontes fijadores de  $N_2$  que se los puede clasificar en: fijadores libres, fijadores asociados y fijadores simbióticos.

- Fijadores libres

Ciertas bacterias y algunas especies de algas verdeazules (cianobacterias) que se desarrollan independientemente tienen la habilidad de fijar el  $N_2$  atmosférico en sus células, sin estar necesariamente asociados a otro organismo. Las cianobacterias crecen sobre rocas y sedimentos en las costas de los cursos de aguas, y fijan  $N_2$  y lo liberan al medio. Otro ejemplo son las bacterias del género *Clostridium*, ampliamente distribuidas en suelos y aguas salinas, sedimentos, intestinos o heces, y la bacteria *Azotobacter*, presente en suelos alcalinos.

- Fijadores asociados

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Los fijadores asociados son aquellos organismos que

pueden fijar  $N_2$  en lugares donde la concentración de oxígeno es muy baja. Un caso es el de bacterias asociadas a raíces de

gramíneas o pastos. Estas bacterias se denominan *epífitas* y colonizan preferentemente la zona del suelo circundante de la raíz, llamada *rizosfera*, donde aprovechan azúcares y otros compuestos exudados por la planta para fijar ciertas cantidades de  $N_2$  que eventualmente son asimiladas por las plantas. Ejemplos de estas bacterias son las diferentes especies de *Azospirillum* asociados a raíces de trigo y maíz.

Otras asociaciones se dan con bacterias *endofitas* que penetran y viven en el interior de gramíneas. En general, estas bacterias colonizan espacios intercelulares y se mueven por los vasos del xilema pero no penetran en las células por lo que no puede hablarse de simbiosis. Entre ellas están el *Acetobacter* y *Herbaspirillum* que son endofitas de la caña de azúcar y las bacterias del género *Azoarcus* capaces de invadir las raíces de arroz.

Además de lograr la ganancia de  $N_2$  por las plantas, estos microorganismos en determinadas condiciones solubilizan fosfatos y sintetizan sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, tales como, vitaminas, ácido indolacético, ácido giberélico o citoquininas. De allí que estas bacterias se conozcan como "promotoras del crecimiento vegetal". Además, estos microorganismos son capaces de sintetizar sustancias fungistáticas que, al inhibir el crecimiento de los hongos del suelo que afectan a las plantas, promueven indirectamente el desarrollo de las plantas, especialmente en las etapas tempranas del cultivo. Estos compuestos tienen acción sobre hongos pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Rhizoctonia*, y cobran importancia para ser usados en planes de control biológico de patógenos (biocontrol).

- Fijadores simbióticos

Estos microorganismos se dividen en dos grupos principales:

- 1) Las bacterias genéricamente llamadas *Rhizobium* que se asocian con un grupo muy grande de plantas leguminosas (chaucha, arveja, poroto, maní, lenteja, soja);
- 2) Las bacterias genéricamente denominadas *Frankia*, capaces de asociarse con más de 250 especies de plantas no leguminosas, denominadas plantas actinorrícicas.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Esta asociación tiene gran importancia ecológica, ya

que las especies actinorrícicas colonizan suelos pobres en nitrógeno.

Existen otras asociaciones simbióticas como las formadas entre plantas vasculares y cianobacterias (algas verdeazules). Otra simbiosis muy importante es la de *Azolla* y *Anabaena*; muy aprovechada para cultivos de arroz.

## El caso de simbiosis *Rhizobium*-leguminosas

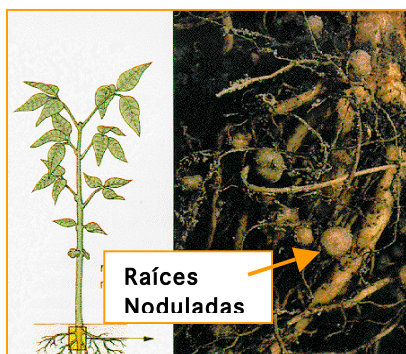


Foto adaptada de:

[http://faculty.abe.ufl.edu/~chyn/age2062/lect/lect\\_12/symbo2.gif](http://faculty.abe.ufl.edu/~chyn/age2062/lect/lect_12/symbo2.gif)

Aunque hay diversas asociaciones que contribuyen a la fijación biológica del  $N_2$ , en la mayoría de los agroecosistemas el 80% del nitrógeno fijado biológicamente ocurre a través de la simbiosis *Rhizobium-leguminosas*. Esta asociación se produce a través de un proceso de reconocimiento específico entre la bacteria y la raíz de la planta. Esto determina el éxito de la asociación simbiótica. El análisis genético de la bacteria *Rhizobium* ha permitido identificar más de 30 genes cuya función es necesaria para el desarrollo de un nódulo fijador de  $N_2$ , y que no se necesitan para el desarrollo propio de la bacteria.

La asociación se inicia con el proceso de infección, cuando las bacterias son estimuladas por los exudados radicales y proliferan. Esto induce un alargamiento y arqueado de los pelos radicales y posterior formación de una estructura tubular por donde *Rhizobium* es conducido hasta la base del pelo. Luego atraviesa la pared de la célula cortical, se establece y se engloba por la membrana plasmática de la célula vegetal, lo que resulta en la formación del nódulo. Allí, en los nódulos radiculares, las

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



bacterias encuentran un ambiente que las protege

suficientemente del oxígeno como para poder producir la enzima nitrogenasa que reduce el  $N_2$  molecular del aire a amonio.

Los dos simbioses, planta y bacteria, se benefician. Las bacterias reducen  $N_2$  a amonio ( $NH_4$ ), el cual es exportado al tejido vegetal para su asimilación en proteínas y otros compuestos nitrogenados. Por su parte, la glucosa fabricada durante la fotosíntesis es transportada a la raíz donde las bacterias la usan como fuente de energía.

## Aplicaciones de las bacterias fijadoras de nitrógeno y promotoras del crecimiento

El reconocimiento de la fijación biológica del  $N_2$  puede remontarse a 300 años antes de Cristo cuando los romanos utilizaban la rotación de cultivos con leguminosas en sus prácticas agrícolas. En la actualidad, además de la rotación de cultivos, se emplean

microorganismos como **biofertilizantes**, y se aplican métodos de **biocontrol** para proteger a las plantas contra el ataque de patógenos, plagas y malezas.

### Biofertilizantes

A pesar de que *Rhizobium* es un habitante común en los suelos agrícolas, frecuentemente su población es insuficiente para alcanzar una relación benéfica con la leguminosa, o la cantidad de  $N_2$  que fijan no resulta suficiente. En estos casos, es posible inocular la semilla con microorganismos para asegurar la fijación biológica del  $N_2$ . El proceso de inoculación consiste en agregar a las semillas, antes de la siembra, una mezcla de bacterias fijadoras y otros ingredientes que facilitan el crecimiento de las mismas.

El empleo de inoculantes de *Rhizobium* en las leguminosas es una de las contribuciones más importantes de la microbiología a la agricultura. Estos inoculantes favorecen la fijación simbiótica de nitrógeno y, en consecuencia, disminuye la dependencia a los fertilizantes nitrogenados y la contaminación ambiental por nitrógeno asociada al empleo de estos productos. Lo ideal es seleccionar un *Rhizobium* altamente infectivo y efectivo para lograr una disminución máxima del fertilizante nitrogenado sin reducir el rendimiento de la leguminosa.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



En la Argentina existen varias empresas e institutos públicos

que trabajan en investigación y desarrollo de inoculantes. Los objetivos de estas investigaciones son básicamente:

- 1) Mejorar la eficiencia de fijación de nitrógeno mediante el uso de bacterias muy competitivas.
- 2) Desarrollar bacterias fijadoras más eficientes y competitivas. También se investiga sobre la obtención de cepas bacterianas con genes capaces de mejorar las limitaciones que presenta el proceso de simbiosis y de fijación de nitrógeno.
- 3) Extender las ventajas de la simbiosis a otros cultivos (arroz, maíz, etc.). En los cereales, por ejemplo, se intenta inducir estructuras similares a los nódulos de leguminosas. Se han realizado experimentos de transferencia de genes inductores de nodulación a plantas de arroz y se ha observado que se expresaban en las raíces de las plantas transgénicas obtenidas.

## Biocontrol

Los métodos de biocontrol buscan proteger a las plantas de los patógenos mediante el uso de agentes biológicos, como microorganismos. Su mecanismo de acción puede ser la competencia nutricional con el patógeno, o por la inducción de resistencia restringiendo

la penetración del patógeno en la planta, optimizando su defensa, o bien por la producción de antibióticos, ácido cianhídrico, etc. efectivos contra enfermedades fúngicas.

Desde el punto de vista histórico, *Azotobacter* es el microorganismo que de una forma más amplia ha sido utilizado en la agricultura. Las primeras aplicaciones de estas bacterias datan de 1902, alcanzando una amplia utilización durante las décadas del 40, 50 y 60, particularmente en los países de Europa del Este. La aplicación práctica de la inoculación de este microorganismo ha sido positiva, observándose notables incrementos en los rendimientos en diferentes cultivos, principalmente en cereales.

De entre las rizobacterias usadas en biocontrol, *Pseudomonas fluorescens* es de las más conocidas. También las bacterias *Bacillus* y *Streptomyces* han resultado muy

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



eficaces en el control de enfermedades. Estas bacterias

producen una amplia gama de metabolitos con capacidad antimicrobiana.

El *Bacillus thuringiensis* (BT) es un agente de biocontrol que representa el 90% del mercado mundial de bioinsecticidas. En los estadios de esporulación produce unos cristales constituidos por proteínas (endotoxinas) dotadas de propiedades insecticidas. Esas endotoxinas forman parte de formulaciones comerciales de bioinsecticidas. Se han obtenido plantas transgénicas (como el maíz BT) que contienen el gen que codifica para endotoxinas, resistentes al ataque de los insectos. Es decir que la misma planta produce el insecticida específico, lo que reduce la necesidad de empleo de productos químicos insecticidas.

Actualmente, cerca de 40 productos están disponibles en el comercio para el control de organismos fitopatógenos. La mayoría de estas bacterias producen antibióticos como mecanismo de control de la enfermedad, pero se sigue investigando con el fin de diseñar nuevos productos para el control biológico de patógenos en la agricultura. Por lo general, las mezclas de cepas nativas, y la generación de cepas genéticamente modificadas en las que se acelera la producción de metabolitos antimicrobianos, son las dos estrategias más atractivas para mejorar la capacidad de las bacterias como agentes de biocontrol.

### **La micorriza, una asociación entre hongos y plantas**

Ciertos hongos del suelo desarrollan interacciones benéficas, como es la asociación mutualista llamada **micorriza**, que establecen con las raíces de las plantas vasculares.

Esta asociación se ha registrado en el 90% de las plantas terrestres. Los distintos tipos de micorrizas se pueden clasificar en *ectomicorrizas* y *endomycorrizas*, según la relación de las hifas del hongo con las células de las raíces del hospedador. En las ectomicorrizas el hongo invade la raíz sin entrar en el interior de las células. Por el contrario en las endomicorrizas el micelio penetra en el interior de las células radicales. Este último tipo de micorrizas es muy frecuente y está extendido en todo el planeta. Se la encuentra en la mayoría de los árboles de las zonas tropicales y algunos árboles de bosques templados, como el arce y el fresno, y algunas coníferas como la araucaria. La mayoría de las plantas arbustivas y herbáceas también poseen este tipo de asociación, y casi la totalidad de las plantas cultivadas.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.





Un tipo particular de endomicorriza, la micorriza

arbuscular, es la más abundante en los sistemas tropicales. El efecto positivo se puede observar en la planta hospedadora al incrementarse su reproducción, supervivencia y producción de biomasa. El hongo se introduce en la raíz de la planta hasta llegar al interior de una célula vegetal, donde un filamento del hongo (hifa) se ramifica formando estructuras semejantes a arbolitos (arbusculos) dentro de la célula o formando vesículas. Dichos hongos actúan como extensiones del sistema radical (existe una conexión continua entre el suelo y el interior de la planta) y facilitan la toma de agua y nutrientes poco disponibles por su baja solubilidad. Por otro lado, protegen a las plantas contra estrés hídrico y patógenos del suelo y otorgan ventajas competitivas con otras plantas.

En la simbiosis micorriza-planta, al igual que en la simbiosis Rhizobium-leguminosa se pone de manifiesto un intercambio de señales entre los simbioses de reconocimiento y aceptación mediados por la expresión de genes.

Actualmente la preparación de inoculantes comerciales de micorrizas está limitada por la imposibilidad de cultivar estos hongos simbioses obligados en laboratorio. Es por ello que las mismas raíces de plantas micorrizadas mezcladas con la tierra donde crecen, constituyen la mejor fuente que se utiliza para inocular nuevas plantas.

La investigación básica podría proveer de nuevas herramientas para producir inoculantes en mayor cantidad, con adecuados controles de calidad y con mayor capacidad infectiva y de colonización

## Los beneficios de las asociaciones

En presencia de simbiosis:

- los cultivos agrícolas necesitan menor adición de fertilizantes ya que se aprovechan mejor los nutrientes del suelo; en promedio se reduce la adición de fertilizante en 25% y de fósforo en 50%.
- La reducción del uso de fungicidas y bactericidas es también importante, considerando que la planta es menos susceptible a infecciones.
- Aumenta la calidad y cantidad de flores o frutos ya que la planta ha tenido una inducción en su crecimiento.

## La microbiología del suelo en la era de la biotecnología moderna

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



En los últimos 20 años,  
investigadores en todo el

mundo, han realizado numerosos esfuerzos con el fin de hacer más eficiente la fijación de  $N_2$  en la simbiosis Rhizobium-leguminosa. La integración de técnicas de estudio de la microbiología tradicional, junto con metodologías moleculares, incluyendo los avances que suponen las técnicas de genómica contribuirá a un mejor conocimiento del funcionamiento de las comunidades microbianas del suelo. A su vez, los estudios sobre la bioquímica de las asociaciones microbianas, han abierto un nuevo horizonte que está cambiando la percepción de la diversidad microbiológica. Por otro lado, la ingeniería genética tiene un enorme potencial para mejorar la eficiencia de los inoculantes en la inducción de simbiosis y mejorar el proceso de fijación o la capacidad de las plantas para asimilar nitrógeno.

Las secuencias genómicas permiten realizar estudios comparativos entre rizobios, así como entre bacterias fijadoras y no fijadoras de nitrógeno. Es posible analizar genes funcionales clave en procesos importantes en suelo tales como la desnitrificación, nitrificación y fijación de nitrógeno. También se puede determinar la diversidad de estos genes en diferentes suelos o diferentes condiciones.

Uno de los principales objetivos actuales es determinar la función que cumplen los diferentes microorganismos y las interacciones planta- microorganismo. Tanto para bacterias como para plantas asociadas, la construcción de microarreglos (microarrays o chips) de ADN está permitiendo abordar estudios de interacción planta-microorganismo que hasta hace pocos años eran imposibles. (Un microarreglo, microarray o chip de ADN es una serie ordenada de muestras de ADN que se pueden estudiar para determinar patrones en la expresión de los genes transcritos). El advenimiento de éstas y otras técnicas permitirán afrontar el reto de la biotecnología de la fijación de nitrógeno.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



## CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

Más allá del aspecto biotecnológico, y de los aportes que realiza esta disciplina a los procesos biológicos, este Cuaderno permite abordar en clase el concepto de ecosistema y las asociaciones que allí se establecen.

Ocurre, en ocasiones, que se define el *ecosistema* como la suma de los componentes bióticos y abióticos. Resulta fundamental al tratar este tema destacar que *el ecosistema no es simplemente la suma del espacio físico y de los seres vivos que lo habitan (incluida la materia orgánica en descomposición), sino que incluye también las relaciones que se establecen entre ellos*. La influencia mutua entre las condiciones del ambiente y los seres vivos, y entre los seres vivos entre sí, hace posible las transformaciones de la materia y de la energía que mantienen al ecosistema en funcionamiento. En este concepto se incluyen las relaciones de simbiosis y mutualismo que trata el Cuaderno, y más ampliamente las relaciones tróficas, las redes tróficas, el ciclo de la materia y el flujo de la energía.

Es interesante trabajar también que estas relaciones que se establecen entre los componentes de un ecosistema, forman parte de él, pero no podemos verlas. Es decir, podemos ver a un animal comiéndose a otro, pero no vemos la relación presa-predador. Podemos ver a una vaca comiendo pasto, pero eso no significa que estemos viendo a un productor y a un consumidor, ya que estos términos hacen referencia a la relación entre ellos. Del mismo modo es posible ver los nódulos en las raíces de las leguminosas pero no se ve la relación de simbiosis. Estos conceptos surgen de la interpretación y del estudio del sistema, y permiten su explicación. En este sentido, y referido a cualquier tema que se aborde en biología, es importante diferenciar entre lo que se “ve” y lo que se “interpreta”. En este sentido, es interesante trabajar con los alumnos que la definición de sistema o de ecosistema (como sistema ecológico) está dada por el interés y el objetivo de quien lo estudia. De esta forma, un bosque completo puede considerarse un ecosistema, pero también un único árbol de ese bosque puede considerarse en sí mismo un ecosistema. Los límites del ecosistema los define quien lo estudia.

Respecto del empleo de métodos biológicos de control y fijación de nutrientes, es interesante plantearlo desde un espectro amplio de la agricultura, como parte de un proceso de desarrollo social y económico de las últimas décadas. A partir de esto, es posible interpretar mejor las ventajas y los aportes que puede hacer la microbiología, la genética, y la biotecnología al desarrollo de una agricultura sustentable.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



En las últimas décadas, la necesidad de aumentar la

producción de alimentos ha llevado a políticas de desarrollo agrícola que promueven el uso de aportes externos en reemplazo de los recursos y procesos naturales de control. Por ejemplo, los pesticidas sustituyeron

en gran medida a los medios biológicos para controlar plagas, malezas y enfermedades, mientras que los fertilizantes inorgánicos sustituyeron al estiércol, el abono vegetal y la fijación biológica de nitrógeno. Este reemplazo introdujo problemas tales como altos costos energéticos, erosión, contaminación, pérdida de productividad, disminución de los ingresos y riesgos para la salud de la población. La alternativa de la agricultura sustentable se plantea como un modelo de organización económica y social, que requiere una participación activa de los agricultores y un conocimiento sobre el funcionamiento del ecosistema. Sus objetivos son:

- ü la producción de una cantidad adecuada de alimentos que contemple la protección de los recursos, la conservación del suelo, el agua, la energía y los recursos biológicos, y la seguridad del ambiente;
- ü una mejora del equilibrio entre los métodos de explotación, la capacidad productiva, y las limitaciones ambientales para garantizar que los niveles de producción sean sostenibles a largo plazo;
- ü un acceso más equitativo a los recursos y la transición a formas de agricultura más justas desde el punto de vista social, y un incremento de la autosuficiencia de los agricultores y de los pueblos rurales.

La agricultura sustentable combina técnicas tradicionales de conservación con métodos modernos, y se basa en:

- ü mayor incorporación de los procesos naturales, como el ciclo de los nutrientes, la fijación biológica del nitrógeno y el control biológico de plagas;
- ü rotación y diversificación de los cultivos que permiten recuperar la fertilidad del suelo, reducir las poblaciones de malezas y plagas y, en consecuencia, la necesidad de pesticidas y herbicidas;
- ü incorporación de plantas regeneradoras del suelo en la rotación de cultivos que fijan y protegen el suelo y, al ser enterradas con el arado, le aportan materia orgánica, aumentan la retención de agua y reducen la erosión;
- ü reducción del uso de aportes externos no renovables como fertilizantes sintéticos, pesticidas y aditivos para el alimento del ganado;

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



## El Cuaderno de PorquéBiotecnología

EDICIÓN N°

genético de las especies vegetales y animales.

- ü mayor uso productivo del potencial biológico y

### CONCEPTOS RELACIONADOS

Individuo. Población. Comunidad. Ecosistema (sistema ecológico). Ciclo de la materia. Flujo de la energía. Cadena alimentaria. Redes tróficas. Relaciones en la comunidad:

depredación, competencia, simbiosis, mutualismo, parasitismo. Microorganismos: estructura, clasificación. Plantas: clasificación.

### ACTIVIDADES

#### Actividad 1: Aplicaciones de microorganismos en la Argentina. Lectura y análisis de un texto

Fuente: [http://www.unrc.edu.ar/unrc/n\\_comp.cdc?nota=16315](http://www.unrc.edu.ar/unrc/n_comp.cdc?nota=16315). Universidad Nacional de Río Cuarto. Septiembre de 2006.

El objetivo de esta actividad es repasar los conceptos trabajados en el Cuaderno a partir del análisis de un caso argentino.

Se propone leer el texto en la página siguiente y responder a las consignas que figuran a continuación:

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.

87



# El Cuaderno de PorquéBiotecnología

EDICIÓN N°

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



## Universitarios locales mejoran un inoculante natural para soja y lo transfieren a una empresa santafesina

Investigadores de la Facultad de Ciencias Exactas, que vienen prestando servicios a distintas empresas del país, mejorarán la formulación de un inoculante natural para soja, producido por la compañía Nova S.A. de la ciudad de Cañada de Gómez –Santa Fe.

El convenio específico fue aprobado por el Consejo Superior y será firmado en los próximos días para dar continuidad a los trabajos que se vienen realizando para el perfeccionamiento del mencionado inoculante a base de *Bradyrhizobium japonicum*, a la vez que establecer un sistema eficiente de producción y control de calidad.

“Es un inoculante biológico, a base de una bacteria que es un simbiote de soja. Este inoculante le aporta nitrógeno a la planta. Es una fórmula con ingredientes de vehículo, que le sirven a la bacteria para poder crecer, multiplicarse y sobrevivir”, explicó el microbiólogo Oscar Masciarelli, quien junto con el doctor Fabricio Cassan, son los responsables técnicos de esta iniciativa.

“A la mejora la llevamos a cabo nosotros en nuestro laboratorio y le transferimos a la empresa los resultados. Hicimos el estudio, logramos la mejora y actualmente los estamos asesorando en cuanto a la manera de implementar estas sugerencias”, comentó, por su parte, la doctora María Virginia Luna, docente del Departamento de Ciencias Naturales, que viene llevando adelante estos trabajos en el Laboratorio de Fisiología Vegetal e Interacción Planta-Microorganismo.

La investigadora es la responsable y coordinadora de esta iniciativa, respecto de la cual aseguró: “Se mejoró la calidad de un producto comercial que se aplica a campo, en particular en soja. Al reformular el medio de cultivo, mejoramos la supervivencia de los microorganismos, la reproducción de los mismos dentro del medio y la producción de compuestos o metabolitos, que van a ayudar a la planta a crecer mejor”.

“El inoculante viene en una bolsa de plástico o en un envase con un contenido que puede ser sólido o líquido. Nosotros evaluamos si la composición química de ese medio es la adecuada para asegurar la supervivencia de la bacteria y un adecuado crecimiento, es decir que produzca los factores de desarrollo que la planta va a necesitar”, detalló Luna. Y acotó:

“Hacemos ese tipo de análisis y le sugerimos a la empresa modificar determinadas metodologías o composición del medio. En el caso particular de Nova, además de la reformulación del medio de cultivo nos ocupamos de controlar *in situ* si los biorreactores están en condiciones y si están funcionando a la temperatura adecuada”.

### El producto se comercializará el año que viene

Oscar Masciarelli, que es investigador del CONICET, al igual que sus dos compañeros de laboratorio, adelantó que “este producto saldrá al comercio el año que viene”. Y sostuvo: “Esto comenzó con un trabajo a escala de laboratorio. Después se hizo una primera visita a la empresa para trasladar a escala piloto. Y ahora hemos vuelto al laboratorio para hacer algunos retoques de la fórmula, y posteriormente volver a la empresa. Estamos en un proceso con el que se procura llegar a un producto final que pueda ser comercializado en la próxima campaña”.

“Nos encontramos en un proceso intermedio. Estamos trabajando con pruebas de laboratorio, para luego pasar a una escala industrial, lo cual requiere de metodologías distintas. Hay que probar si lo que se hace en el laboratorio es útil a la planta y, de esa forma, extrapolarlo a nivel industrial, con los necesarios reajustes y mejoras”, explicó el joven investigador.

### Trayectoria en determinaciones hormonales

El laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNRC cuenta con una dilatada trayectoria en el estudio bioquímico de fitoreguladores, que son hormonas que promueven el crecimiento vegetal. Sus integrantes desde hace cuatro años vienen recibiendo consultas por parte de distintas empresas y ofrecen servicios a empresas de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe.

“Debido a la trayectoria en el estudio de hormonas vegetales, que hasta el año pasado no lo hacía ningún otro laboratorio en la Argentina, nuestro laboratorio comenzó a ser referencia en materia de control de calidad de inoculantes en el país”, subrayó María Virginia Luna, al tiempo que agregó: “Formamos parte de una red nacional de control de calidad de inoculantes, que se reúne una vez por mes para fijar pautas uniformes, que permitan determinar la efectividad y durabilidad de los inoculantes comerciales”.

## Preguntas para analizar el texto:

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



1. ¿Cuál es el objetivo del trabajo de investigación realizado? Rta. Mejorar un inoculante natural que se aplica a campo. Lo que hicieron fue reformular el medio de cultivo en el que crecen los microorganismos.
2. ¿Qué beneficios traerá este desarrollo? Rta. Al reformular el medio de cultivo, mejora la supervivencia de los microorganismos, su reproducción dentro del medio y la producción de compuestos o metabolitos, que van a ayudar a la planta a crecer mejor. Esto, a su vez, trae beneficio al productor.
3. ¿Cómo beneficia este producto al suelo? Rta. Es un biofertilizante. Es decir, un fertilizante obtenido a partir del uso de microorganismos, constituyendo una alternativa sustentable a los fertilizantes químicos, con el consecuente beneficio para el medio ambiente y para el productor.
4. ¿Qué tipo de microorganismo es utilizado en este producto? Rta: Bacterias de la especie *Bradyrhizobium japonicum*.
5. ¿Por qué se habrá elegido este tipo de bacterias para fabricar el inoculante? Rta. Se eligen bacterias que establecen específicamente una relación de simbiosis con el cultivo de interés, en este caso la soja.
6. ¿Cuál es la función de las bacterias del inoculante? Rta. Son bacterias fijadoras de nitrógeno. Es decir que tiene la capacidad de incorporar  $N_2$  y transformarlo a una forma que puede ser aprovechada por la planta. De esta forma, ayudan a que la planta obtenga el nitrógeno que no puede incorporar del aire.
7. 6-¿Qué aporte hacen los investigadores de la Universidad de Río Cuarto a la industria? Rta: Los investigadores mejoraron en el laboratorio la calidad de un inoculante y transfirieron estos resultados a una empresa santafecina que emplea estos productos en cultivos de soja. Los asesoran en la manera de implementar estas mejoras, de establecer un sistema eficiente de producción y control de calidad, y controlaron el estado y funcionamiento de los biorreactores.
8. 8-¿Qué son y para qué se utilizan los biorreactores? Rta: Son grandes fermentadores donde se cultivan en medio líquido las bacterias que van a usarse para formular el biofertilizante.
9. ¿Qué servicio ofrece este laboratorio a nivel nacional? Rta. Asesoran en el control de calidad de los inoculantes, determinan su efectividad y durabilidad.

## Actividad 2. Actividad experimental. Fijación biológica de nitrógeno

Objetivo: Comprobar los beneficios de la Fijación Biológica de Nitrógeno atmosférico y de la inoculación.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.





Se sugiere dividir el curso en

tres grupos.

### Material por grupo de alumnos:

- ü 20 semillas de poroto o soja
- ü 10 frascos de plástico con tapa para usar como macetas
- ü Tierra (suficiente para llenar 10 frascos)
- ü Inoculante (se puede conseguir una muestra en una semillera o productora de inoculantes)
- ü Lavandina comercial
- ü Agua hervida durante 15 minutos

### Procedimiento por grupo:

- Esterilizar la mitad de la tierra. Una forma sencilla de esterilizarla consiste en hervir la tierra disuelta en agua durante 15 minutos en una olla de presión o durante 30 minutos en una olla común.
  - Filtrar la tierra con una tela y dejarla enfriar.
- Hacer pequeños agujeros en la base de los frascos para permitir que drene el agua de riego de las macetas.
- Llenar dos de las macetas con tierra estéril y dos con tierra no estéril.
- Hacer cuatro agujeros en cada una de las tapas (suficientemente grandes como para que entren las semillas) y tapar las macetas.
- Esterilizar las semillas: diluir el cloro al 20% (un volumen de cloro por cuatro de agua) y sumergir las semillas en esta solución durante 20 minutos. Luego enjuagarlas con agua hervida o desinfectada.
- Sólo dos de los tres grupos usarán el inoculante. Inocular la mitad de las semillas según recomendaciones del fabricante.
- Sembrar las semillas según los siguientes tratamientos:
  - 1: Sembrar 10 semillas no inoculadas en 5 macetas con tierra estéril (2 semillas por maceta).
  - 2: Sembrar 10 semillas no inoculadas en 5 macetas con tierra no estéril (2 semillas por maceta).
  - 3: Sembrar 10 semillas inoculadas en 5 macetas con tierra estéril (2 semillas por maceta).

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



4: Sembrar 10 semillas  
inoculadas en 5 macetas con

tierra no estéril (2 semillas por maceta).

**Nota: cuidar que las semillas queden cubiertas con tierra.**

- Cultivar las plantas durante 20 días, regándolas con agua hervida (fría).
- Solicitar a los alumnos que escriban los resultados que esperan obtener al momento de hacer la siembra.
- Analizar los resultados obtenidos. Comparar las 4 tratamientos: buscar presencia de nódulos, tamaño de las plantas, color de las hojas, actividad de los nódulos (una coloración rojiza indica que estos nódulos son activos. Otros colores, como verde o blanco indican ausencia de actividad.)
- Contrastar los resultados obtenidos con los esperados.
- Cada alumno escribirá en su cuaderno la conclusión que sacan a partir de los resultados obtenidos.

Resultados esperados: en los tratamientos 2, 3 y 4 las plantas deberían crecer más que las del tratamiento 1, deberán ser de un color verde más intenso y presentar nódulos en sus raíces, debido a la presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno preexistentes en la tierra o por causa de la aplicación de inoculantes. Las semillas inoculadas deberían presentar mayor número de nódulos que en el tratamiento sin inoculación. En el tratamiento 1 no deberían visualizarse nódulos porque los microorganismos preexistentes deberían haberse degradado por la esterilización.

Importante: si la tierra es muy rica en nitrógeno o es muy ácida, las diferencias no podrán observarse con facilidad, ya que ambos factores actúen inhibiendo la nodulación, por lo cual se recomienda que las pruebas se realicen con tierra de diferentes zonas, para asegurar el éxito de esta actividad.

## MATERIAL DE CONSULTA

La fijación simbiótica de nitrógeno en soja. Nodulación, Inoculante y Métodos de Inoculación. Leticia A Fernández. *Ciencia Hoy*. Vol 15 - N° 85. 2005.

<http://www.cienciahoy.org.ar/ln/hoy85/soja.htm>

Libro electrónico. Ciencias de la Tierra y del medio ambiente. Luis Echarri Prim. España.

<http://www.esi.unav.es/asignaturas/ecologia/Hipertexto/indice.html>

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Plantas, bacterias, hongos, mi  
mujer, el cocinero y su amante.

Sobre interacciones biológicas, los ciclos de los elementos y otras historias. Luis G. Wall  
Colección Ciencia que Ladra. UNQ. Siglo XXI. 2005.

Revista Red Escolar. La ciencia en todas partes. La fijación biológica de nitrógeno y su  
importancia. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno. Universidad Nacional de  
México. <http://redescolar.ilce.edu.mx/redescolar/Revista/06/articulos/06.html>.

Reino Fungi: Micorrizas. Sitio web con temas en hipertexto de Biología  
<http://fai.unne.edu.ar/biologia/fungi/micorrizas.htm#inicio>

Ecología de las comunidades. Sitio web con temas en hipertexto de Biología  
<http://www.biologia.edu.ar/ecologia/ECOLOGIA%20DE%20LAS%20COMUNIDADES.htm>

Sitio web en inglés con fotos y técnica de observación de micorrizas  
<http://www.ffp.csiro.au/research/mycorrhiza/vam.html#look>

Red Iberoamericana De Biofertilizantes Microbianos Para La Agricultura  
<http://www.cytod.org/Menu5/RedConsul.asp?CodRed=247>

Documento "Fertilizantes". Rubén Iglesias García- Enero 2001  
[http://coli.usal.es/Web/educativo/biotec\\_microb/temas/29RubenIglesiasGarcia.pdf](http://coli.usal.es/Web/educativo/biotec_microb/temas/29RubenIglesiasGarcia.pdf)

Documento Empresa Biagro. <http://www.biagrosa.com.ar/esp/images/revista2.pdf>

Guía de inoculación. Documento con información teórica y técnica sobre inoculantes  
<http://www.nitragin.com.ar/guiainoc.asp>

Sitio web con animaciones sobre microarrays de ADN  
<http://www.bio.davidson.edu/Courses/genomics/chip/chipQ.html>

Sitio web de Modelo análogo para educadores del genoma  
<http://www.entm.purdue.edu/extensiongenomics/GAME/spanish/lesson4.html>

"El Cuaderno de Porqué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Porqué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Porqué Biotecnología.