



Producto 08: Mayor producción agrícola con menor emisión de óxido nitroso (ATN-RF-18786-RG).

El perfil de actividad PGPR de las mutantes obtenidas

Autores: Nicolás Ayub, Gabriela Soto, Florencia del Papa, Antonio Lagares, Raúl Platero, Elena Fabiano, Oscar Ruiz, Vanina Maguire, Nubia Moreno, Maribel Parada, Juan Sanjuán

Año: 2023





Códigos JEL: Q16

ISBN: ()

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por Nicolás Ayub, Gabriela Soto, Florencia del Papa, Antonio Lagares, Raúl Platero, Elena Fabiano, Oscar Ruiz, Vanina Maguire, Nubia Moreno, Maribel Parada, Juan Sanjuán

Copyright © 2024 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

FONTAGRO

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org

www.fontagro.org



Tabla de Contenidos

Abstract	4
Resumen EJECUTIVO.....	5
Palabras Clave:.....	5
Introducción	6
Información de Relevancia con una discusión técnica.....	7
Objetivos	7
Resultados	7
Discusión.....	9
Conclusiones y recomendaciones.....	9
Referencias Bibliográficas	10
Instituciones participantes.....	11



ABSTRACT

La agricultura produce un 60% de la emisión de óxido nitroso (N₂O), uno de los tres principales gases de efecto invernadero responsables del calentamiento global. Paradójicamente, la agricultura es muy sensible al cambio climático, generando la necesidad de impulsar políticas de innovación tecnológica climáticamente inteligentes. En el presente proyecto de cooperación técnica multilateral se extenderán los beneficios tradicionales proporcionados por los inoculantes y se incorporarán nuevas características de reconocido valor ambiental (reducción de la emisión de N₂O) y alto impacto económico (desarrollo de tolerancia a herbicidas y a estrés abiótico) mediante *non-GMO technologies*. Estas innovaciones tecnológicas permitirán incrementar la producción agropecuaria y reducir las emisiones de N₂O en América latina y el Caribe, contribuyendo a la sustentabilidad de la agricultura y a la consolidación de la región como líder en el mercado mundial de inoculantes.

Agriculture produces 60% of nitrous oxide (N₂O) emissions, one of the three main greenhouse gases responsible for global warming. Paradoxically, agriculture is highly sensitive to climate change, generating the need to promote climate-smart technological innovation policies. In this present project of multilateral technical cooperation, the traditional benefits provided by inoculants will be extended, and new environmentally valuable characteristics (reduction of N₂O emissions) and high economic impact (development of herbicide tolerance and abiotic stress) will be incorporated through non-GMO technologies. These technological innovations will allow increasing agricultural production and reducing N₂O emissions in Latin America and the Caribbean, contributing to the sustainability of agriculture and the consolidation of the region as a leader in the global inoculant market.

La información que se presenta a continuación es acumulativa y hace referencia al año 1 y 2 del proyecto.



RESUMEN EJECUTIVO

Los rizobios utilizados para fijar nitrógeno en soja deben enfrentarse a factores bióticos y abióticos que reducen su aporte ecológico y económico. Dentro de los factores abióticos se destaca el glifosato, un poderoso bacteriostático que inhibe el crecimiento de los rizobios. Entre los factores bióticos, el principal limitante es la competencia con otros microorganismos del suelo, incluyendo rizobios con alta capacidad de colonización de nódulos y baja eficiencia de fijación y nitrógeno. Para maximizar la eficiencia de los inoculantes de soja desarrollamos inoculantes mutantes derivados de los inoculantes modernos con tolerancia al glifosato y estrés oxidativo. Este mejoramiento genético permitió mejorar la productividad de la soja.

PALABRAS CLAVE: SOJA, GLIFOSATO, NITRÓGENO, RIZOBIO.



INTRODUCCIÓN

Los inoculantes agrícolas, en su variedad de formas y aplicaciones, representan un segmento importante de la tecnología agrícola moderna. En un mundo donde la demanda de alimentos está en constante aumento y la presión sobre los recursos naturales es cada vez mayor, los agricultores buscan constantemente formas de mejorar la productividad de sus cultivos mientras minimizan el impacto ambiental. Los inoculantes agrícolas ofrecen una solución prometedora, al aprovechar las relaciones simbióticas entre las plantas y los microorganismos beneficiosos para promover el crecimiento de los cultivos, mejorar la salud del suelo y reducir la necesidad de fertilizantes químicos.

Los microorganismos presentes en los inoculantes agrícolas juegan roles clave en el ciclo de nutrientes y la salud del suelo. Por ejemplo, las bacterias fijadoras de nitrógeno, como cepas de los géneros *Sinorhizobium* y *Bradyrhizobium*, son capaces de convertir el nitrógeno atmosférico en formas que las plantas pueden utilizar, lo que reduce la necesidad de fertilizantes nitrogenados y ayuda a mantener la fertilidad del suelo. Los hongos micorrízicos, por otro lado, forman asociaciones simbióticas con las raíces de las plantas, mejorando la absorción de nutrientes, especialmente fósforo, y aumentando la resistencia a enfermedades y condiciones adversas del suelo.

La aplicación de inoculantes agrícolas puede realizarse de varias formas, según el tipo de producto y las condiciones específicas de cultivo. Los inoculantes de fijación de nitrógeno, por ejemplo, se aplican típicamente a las semillas antes de la siembra, mientras que otros pueden ser aplicados al suelo o al follaje de las plantas. La correcta aplicación y manejo de los inoculantes son cruciales para garantizar su efectividad y maximizar los beneficios para los cultivos y el medio ambiente.

Uno de los principales beneficios de los inoculantes agrícolas es su capacidad para mejorar la eficiencia del uso de nutrientes, lo que puede traducirse en mayores rendimientos y menores costos de producción para los agricultores. Además, al reducir la necesidad de fertilizantes químicos, los inoculantes agrícolas pueden ayudar a mitigar la contaminación del agua y el suelo, así como a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero asociadas con la producción de fertilizantes sintéticos.

Sin embargo, a pesar de sus numerosos beneficios, los inoculantes agrícolas también enfrentan varios desafíos que deben abordarse para su adopción generalizada y efectiva. Por ejemplo, la viabilidad y estabilidad de los microorganismos en los inoculantes pueden variar según las condiciones de almacenamiento y aplicación, lo que puede afectar su eficacia en el campo. Además, la adaptación de los inoculantes a diferentes condiciones de suelo y cultivo puede ser un desafío, especialmente en sistemas agrícolas altamente heterogéneos.



La investigación y el desarrollo continuos son fundamentales para superar estos desafíos y desbloquear todo el potencial de los inoculantes agrícolas. Se necesitan más estudios para comprender mejor los mecanismos subyacentes de acción de los microorganismos en los inoculantes y para identificar cepas más eficaces y adaptadas a diferentes condiciones agrícolas. Además, se requiere una mayor inversión en tecnologías de formulación y aplicación para garantizar la viabilidad y estabilidad de los inoculantes a lo largo de su ciclo de vida.

El glifosato inhibe la enzima 5-enolpyruvyl-3-shikimate phosphate synthase (EPSPS) involucrada en la síntesis *de novo* de los aminoácidos aromáticos en plantas, bacterias y otros organismos. Una característica clave de este herbicida sistémico que explica su éxito comercial es su particular capacidad de translocar rápidamente por los tejidos vegetales, matando meristemas en regiones muy lejanas a su sitio de aplicación y así controlando una amplia diversidad de malezas incluyendo especies vegetales perennes. Los actuales cultivos comerciales tolerantes a glifosato, incluyendo los cultivares transgénicos de soja, expresan una enzima EPSPS insensible y no una enzima de degradación del glifosato, y así, sus endófitos naturales e inoculantes comerciales son indirectamente expuestos al glifosato. Un claro ejemplo del negativo impacto del glifosato sobre las bacterias promotoras del crecimiento vegetal es la reducción en la fijación de nitrógeno y la productividad en el cultivo de soja transgénica, mediante la inhibición de sus rizobios (Fan et al. 2017). Esta situación evidencia la necesidad de mejorar los inoculantes para maximizar la fijación de nitrógeno y la degradación de glifosato en cultivos tolerantes a glifosato. En este marco, analizamos la eficiencia de rizobios mutantes espontáneas tolerantes a herbicidas en su capacidad de promover el crecimiento del cultivo de soja.

OBJETIVOS

El objetivo principal del proyecto es desarrollar inoculantes para cultivos extensivos de América Latina y el Caribe capaces de disminuir la emisión de N_2O y de mejorar la productividad regional. El objetivo específico de este producto de conocimiento, denominado “El perfil de actividad PGPR de las mutantes obtenidas”, es caracterizar el impacto de las mutaciones de tolerancia a glifosato sobre la productividad de la soja. Específicamente, el objetivo es caracterizar cinco mutantes de rizobios de soja obtenidas en el transcurso del desarrollo de este proyecto.

RESULTADOS

En una primera etapa, estudiamos el efecto de las mutaciones espontáneas de tolerancia a glifosato en las cepas GR1-5 derivadas del inoculante de soja E109 en cuanto a su actividad PGPR sin aplicación de herbicida glifosato. Esto se realizó para analizar si las mutaciones tienen



penalidad en condiciones libres de herbicida. En ausencia de glifosato, no se observó penalidad para ninguna mutación e incluso una de las mutantes (GR5) mostró mejor desempeño que su par salvaje (E109) en cuanto a productividad, formación de nódulos y calidad nutricional (Liebrenz et al., 2022) (Fig. 1).

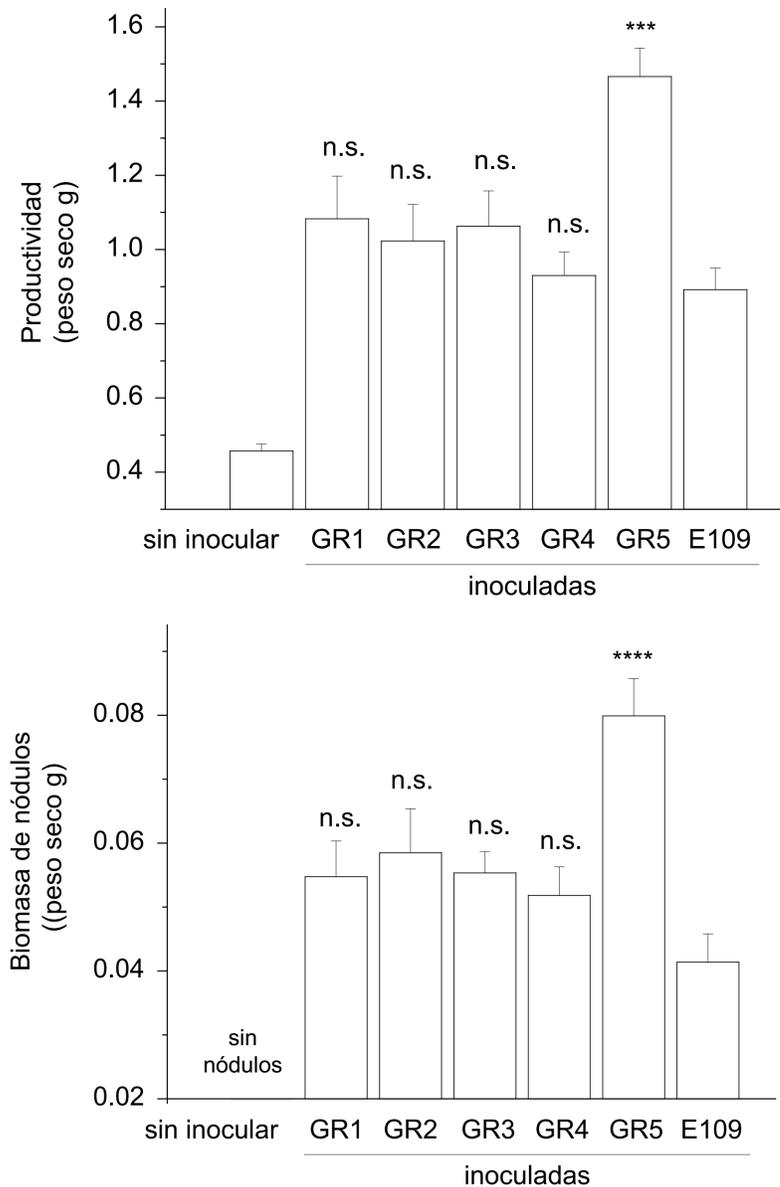


Figura 1. Efectos de la mutación S90A sobre el gen *nifH* (cepa GR5) en la eficiencia de la promoción de crecimiento vegetal. La productividad (a) y la biomasa de nódulos (b) de las plantas inoculadas con la cepa parental E109 y las mutantes GR1-GR5 fueron analizadas en ausencia de



nitrógeno en el sustrato y sin la adición de glifosato. La cepa GR5 contiene la mutación S90A. Los valores son del promedio + SEM (n = 24). Las diferencias significativas entre los inoculantes fueron analizadas con ANOVA y test de Dunnett (n.s.: no significativa, ****p < 0.0001).

DISCUSIÓN

Las distintas mutaciones espontáneas que ofrecen tolerancia a glifosato no tienen penalidad en condiciones libres de este herbicida e incluso en el caso de la mutante GR5 (NifHS90A) su eficiencia fue mayor que el actual inoculante comercial E109. Se precisan experimentos con aplicación de glifosato para conocer todo el potencial de estas nuevas cepas tolerantes al glifosato.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con los resultados hasta aquí obtenidos podemos concluir que las mutaciones que producen tolerancia al glifosato no afectan lo normal crecimiento de las bacterias, sino que incluso pueden darle una mayor actividad de promoción del crecimiento vegetal aún en ausencia de glifosato. En base a esta conclusión se recomienda continuar en el futuro con la caracterización de estas cepas bajo estrés por glifosato.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Fan L, Feng Y, Weaver DB, Delaney DP, Wehtje GR, Wang G (2017) Glyphosate effects on symbiotic nitrogen fixation in glyphosate-resistant soybean. *Appl Soil Ecol* 121:11e9. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139317303384>

Liebrenz, K., Frare, R., Gómez, C., Pascuan, C., Brambilla, S., Soldini, D., . . . Ayub, N. (2022). Multiple ways to evade the bacteriostatic action of glyphosate in rhizobia include the mutation of the conserved serine 90 of the nitrogenase subunit NifH to alanine. *Research in Microbiology*, 173(6), 103952. doi:<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.103952>



INSTITUCIONES PARTICIPANTES



Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



www.fontagro.org

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org