

¿Por qué son importantes los microorganismos del suelo para la agricultura?

Marcelo A. Soria

*Cátedra de Microbiología Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. INBA-
CONICET. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina*

soria@agro.uba.ar

Resumen

La ecología microbiana del suelo es una disciplina que estudia las relaciones bióticas y abióticas de las comunidades microbianas que habitan los suelos. La enorme biodiversidad presente en esas comunidades, las interacciones resultantes y la complejidad estructural y microambiental del suelo crearon dificultades enormes para el avance de esta rama de la microbiología. Es por esto que la microbiología de los suelos siempre estuvo impulsada y a su vez limitada por las posibilidades metodológicas. El uso simultáneo de diferentes técnicas analíticas, junto con la introducción de las meta-ómicas (metagenómica, metatranscriptómica, etc.) y el desarrollo de técnicas de análisis de datos más sofisticadas nos están permitiendo conocer con una profundidad sin precedente la dinámica de las comunidades microbianas en el suelo. Este conocimiento es fundamental para entender el rol de los microorganismos en los procesos de cambio climático, proponer y evaluar prácticas de manejo agronómico sostenibles para hacer frente a la creciente demanda de alimentos y biocombustibles, y descubrir nuevos productos bioactivos.

Palabras clave: ecología microbiana, microbiomas, metaómicas, sostenibilidad

Why are soil microorganisms important for agriculture?

Summary

The microbial ecology of soils is a discipline that focuses on the biotic and abiotic relations in the microbial communities that inhabit the soils. The huge biodiversity present in those communities, the resulting interactions and the structural and microenvironmental complexity of soil caused great difficulties for the advancement of this branch of microbiology. For this reason, soil microbiology was always driven and at the same time constrained by methodological capabilities. The simultaneous application of analytical techniques along with the introduction of the meta-omics (metagenomics, metatranscriptomics, etc.) and the development of more sophisticated analytical techniques are allowing us to know with unprecedented detail the dynamics of soil microbial communities. This knowledge is fundamental to understand the role of microorganisms in the process of climate change,

to put forward and assess sustainable agricultural management practices that can deal with the growing demand of food, feed and biofuels, and to discover novel bioactive products.

Keywords: microbial ecology, microbiomes, meta-omics, sustainability

Microbiología y Agricultura

Las relaciones entre microbiología y agricultura son numerosas y se evidencian una y otra vez. Existen microorganismos que son patógenos para las plantas y microorganismos que son capaces de controlar a esos patógenos. Otros son necesarios para transformar productos agrícolas primarios en productos de mayor valor agregado, sobre todo alimenticios. A su vez, existen diferentes microorganismos que participan en procesos de deterioro postcosecha. Sin embargo, si queremos conocer la actividad microbiana que más influye a la agricultura, y en verdad a la sostenibilidad de la vida en el planeta, tenemos que mirar para abajo, al suelo. Los microorganismos participan en los procesos de formación y degradación del suelo y en todos los ciclos elementales fundamentales: carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y hierro.

Una breve historia de la microbiología de suelos

La microbiología del suelo nace casi al mismo tiempo que la microbiología moderna, a mediados del siglo XIX. Desde temprano se reconoció la importancia de los microorganismos como patógenos de animales y plantas, y también su papel en el ciclado de algunos nutrientes. Pero el avance de esta rama no fue tan rápido como el de otras áreas de su ciencia madre.

En el avance más lento de la microbiología del suelo se conjugaron varios factores que podemos resumir en la dificultad de obtener cultivos puros de la gran mayoría de los microorganismos que habitan el suelo, la complejidad de los procesos en los que intervienen y la complejidad estructural del suelo. Incluso hoy, solo conseguimos obtener cultivos puros de una pequeña fracción de los microorganismos del suelo. Aun más, todavía no sabemos con certeza cuál es la carga microbiana y el número de especies diferentes por gramo de suelo [1]. Para hacer las cosas más difíciles, tampoco hay un consenso definitivo sobre qué es una especie procariótica [2], [3]. Ni tampoco podemos discriminar con precisión entre las diferentes poblaciones de una muestra de suelo cuáles están metabólicamente activas y cuáles en un estado de dormición [4]. Por otra parte, el ciclado de materiales en el suelo es el resultado de la combinación de numerosos procesos bioquímicos llevados a cabo por diferentes microorganismos junto con reacciones químicas no biológicas. Estos procesos ocurren en la matriz del suelo, donde a su vez se diferencian diversos microambientes determinados por el tamaño y tipo de los agregados del suelo, disponibilidad de oxígeno y agua, composición relativa de arena, limo y arcillas, contenido y estabilidad de la materia orgánica del suelo, entre los factores más importantes, pero lejos de ser los únicos relevantes.

Durante varias décadas la actividad principal de los microbiólogos de suelo fue relevar la diversidad bacteriana y fúngica, sobre todo mediante recuentos de grupos específicos. A estos grupos microbianos se le asignaron actividades funcionales y a través de su cuantificación se intentaba entender la dinámica de los procesos que estaban ocurriendo en el suelo. Hacia fines de la década de los 60 e inicios de los 70 comenzó a resultar cada vez más evidente que los métodos de recuento brindaban una información muy parcial e imprecisa. En coincidencia con esto, más o menos para la misma época se introdujeron los métodos de medición de actividades enzimáticas en los estudios ambientales y comienza una nueva era [5]. Estos métodos presentaban la ventaja de ser rápidos y no requerían el cultivo de microorganismos aislados, ya que se realizaban sobre extractos. No obstante, presentan varias desventajas. Entre otras, la actividad medida en el laboratorio puede no corresponderse con la actividad real a nivel de la comunidad microbiana. Además, en la medición puede haber una contribución importante de enzimas adheridas y estabilizadas sobre partículas del suelo, que tampoco representan el nivel real de actividad en la comunidad. Y solo es posible medir un número relativamente restringido de actividades enzimáticas. A pesar de estas y otras desventajas, hoy todavía empleamos la medición de algunas actividades enzimáticas clave, pero como una herramienta más dentro de una batería amplia de técnicas. En 1991 Garland y Mills [6] introdujeron una metodología relacionada pero de mayor utilidad conocida como análisis de perfiles fisiológicos a nivel de comunidades (CLPP, por sus siglas en inglés) que permite relevar en un solo ensayo la capacidad de la comunidad microbiana para metabolizar una serie de entre 30 y 95 fuentes de carbono. Con modificaciones y nuevas variantes esta metodología continúa en uso.

Otro desarrollo importante ocurrió también en la década de los 70, cuando se introducen las metodologías de cuantificación de la actividad respiratoria de las comunidades [5]. Esto permitió estudiar la dinámica de flujos y reservorios de carbono en el suelo y acercó definitivamente la microbiología de suelos a la ecología. De hecho, en la actualidad una denominación alternativa y posiblemente más precisa de la disciplina que nos ocupa es “ecología microbiana de suelos”. Más allá de las denominaciones, la integración de la microbiología de suelos en un marco de trabajo ecológico amplió el horizonte y la profundidad conceptual de las investigaciones. Surgieron nuevos interrogantes ¿Cómo se organizan y se adaptan las comunidades microbianas del suelo? ¿Cuáles son las funcionalidades presentes en las comunidades? ¿Cómo se comportan las comunidades desde el punto de vista de las fuentes y destinos de carbono? Esta última pregunta adquirió enorme relevancia en los últimos años ya que el aumento de los niveles de CO₂ atmosférico y de la temperatura global alterará la dinámica de la acumulación y liberación del carbono secuestrado en la materia orgánica del suelo [7], [8]. De manera que la actividad microbiana de los suelos podría mitigar o acentuar el cambio climático global. Todavía no existe una respuesta precisa para esta cuestión.

Entran las ómicas

Desde la década de los 90 se incorporaron métodos moleculares a los estudios de ecología microbiana. Sin embargo, la introducción de las técnicas de secuenciación masiva de DNA en los inicios del presente siglo provocó un cambio profundo y todavía en marcha en la ecología microbiana. Las primeras metodologías que se desarrollaron sirvieron para analizar las secuencias de amplicones

de regiones hipervariables del gen que codifica para el RNA ribosomosal procariótico de 16S (16S rRNA) y las regiones ITS y las hipervariables del gen 18S rRNA de eucariotas microbianos. Al poco tiempo se introdujo la secuenciación de DNA genómico total. Estas metodologías constituyeron las bases de la metagenómica [9]. Luego siguieron las mejoras de la técnicas de laboratorio que abrieron el camino a la metatranscriptómica; esto es, extraer RNA mensajero de muestras de suelos, estabilizarlo, convertirlo a cDNA y secuenciarlo [10]. Y a continuación comenzaron a aparecer trabajos de metaproteómica con cantidades crecientes de fragmentos peptídicos relevados [11], [12]. Aunque todavía son poco frecuentes, ya existen trabajos que integran varias estrategias ómicas simultáneamente [13]. Esta es una tendencia que seguramente se irá acentuando.

Los estudios iniciales, y los que continuaron, revelaron la enorme diversidad de microorganismos en el suelo y la heterogeneidad de su distribución. La mayoría de las secuencias encontradas pertenecen a unas pocas especies dominantes y después hay una larga cola de especies con números muy bajos de secuencias. También se pudo determinar que las comunidades microbianas, o microbiomas como también se comenzaron a llamar, son muy sensibles a los cambios en el uso del suelo. La combinación de metodologías ómicas permitió determinar, por ejemplo, que los relevamientos metagenómicos sirven para conocer el potencial funcional de los microbiomas, es decir, saber qué genes están presentes en el microbioma y que función pueden cumplir. Pero estos genes no están necesariamente activos. Para dilucidar este punto la opción más común es sumar técnicas de metatranscriptómica; que en el futuro seguramente se complementarán o reemplazarán con técnicas de metaproteómica y metabolómica.

Los estudios polifásicos hoy

A pesar de la cantidad de información que generan las metodologías de secuenciación masiva de DNA, para entender el funcionamiento y la dinámica de los ecosistemas microbianos, las técnicas nuevas se deben complementar con otras determinaciones físico-químicas más tradicionales y con técnicas microbiológicas que sirven para evaluar los cambios funcionales, como CLPP o derivadas, y técnicas de relevamiento genético exploratorio de menor costo (geles en gradientes desnaturizantes, DGGE) o de dosaje génico específico como PCR en tiempo real de genes clave. Estos estudios se llaman polifásicos y con ellos se puede entender el comportamiento de la comunidad microbiana en relación a los factores bióticos y abióticos de su ambiente. Así, por ejemplo, el trabajo realizado en nuestro laboratorio en la zona de los bosques de Las Yungas y las regiones bajo explotación agrícola adyacentes, incluyó el uso combinado de métodos de caracterización físico-química de los suelos, análisis de los perfiles fisiológicos de los microbiomas, análisis cromatográfico de ácidos grasos de los fosfolípidos de membrana, análisis exploratorio con DGGE y secuenciado de amplicones del gen 16S rRNA [14][15]. Así, pudimos determinar que las comunidades microbianas de los bosques protegidos son diferentes de los parches de monte adyacentes a los campos productivos, y que estos microbiomas se van modificando a lo largo de los años de uso agrícola (Figuras 1 y 2). Esta modificación no ocurre a nivel de una pérdida de diversidad, como era nuestra hipótesis inicial,

sino a través de la modificación de las abundancias relativas de varios grupos microbianos, especialmente los menos numerosos. La continuidad de estos trabajos se enfoca en determinar cuál es el impacto en las funcionalidades de las comunidades frente a los cambios en el uso del suelo.

Tendencias futuras

En una disciplina que a lo largo de su historia se ha encontrado más de una vez en la situación en que nuevas metodologías dispararon avances revolucionarios puede resultar difícil hacer predicciones. No obstante, podemos hacer este ejercicio apoyándonos en lo que conocemos hasta ahora y con la perspectiva de cuáles pueden ser las aplicaciones del conocimiento que vamos adquiriendo.

Es evidente que hemos vuelto a una etapa de exploración. Las ómicas nos sirvieron para descubrir y ver en detalle la ecología de los microbiomas como nunca antes. En este documento y en la bibliografía sugerida se prestó más atención a los componentes bacterianos y fúngicos, pero también hay importantes avances en el análisis de otros eucariotas inferiores, de poblaciones de virus y en las relaciones con la mesofauna del suelo, aunque todavía no recibieron la atención que su relevancia amerita. Cientos de millones de años de co-evolución en un ambiente complejo y variable también determinaron interrelaciones complejas. Los ecosistemas microbianos contienen las mismas relaciones de predación, competencia, parasitismo, mutualismo y cooperación que se observan en los ecosistemas “macro”. Sin embargo, todavía no las conocemos en profundidad, en parte porque recién ahora tenemos un panorama más claro de la biodiversidad microbiana. Pero así como los ecólogos comenzaron a formular teorías sobre las relaciones bióticas en los ecosistemas dominados por plantas y animales aun antes de alcanzar un conocimiento exhaustivo de la biodiversidad, seguramente en poco tiempo tendremos teorías *ad hoc* para los sistemas microbianos. Teorías que seguramente serán más complejas que las de ecosistemas “macro”, porque por lo visto hasta ahora las redes de interacciones son más densas y sofisticadas y con dinámicas temporales, espaciales y de nicho más variadas. A esto le debemos sumar el nivel de detalle molecular y bioquímico que estamos alcanzando en el conocimiento de los sistemas microbianos en relación a los ecosistemas conformados por plantas y animales. Otra característica propia de los estudios ecológicos en microbiología es la gran cantidad de datos involucrados. A medida que mejoran las técnicas y caen los costos de secuenciado de DNA y proteínas - éstas últimas en menor medida-, los volúmenes de datos crecen exponencialmente. En consecuencia, los modelos de funcionamiento de los ecosistemas microbianos deberán integrar conceptos ecológicos, moleculares, químicos, físicos y edáficos en un ambiente de trabajo más cercano a las nuevas ciencias de datos, o *Big Data*.

Más allá de aumentar el conocimiento, nos podemos preguntar cuál es la utilidad de estos estudios, teniendo en cuenta los costos involucrados, la necesidad de formar equipos multidisciplinarios y los requerimientos de formación específica, entre otros aspectos. Ensayaremos a continuación algunas respuestas.

Las actividades microbianas son determinantes de la ganancia o pérdida de fertilidad de los suelos y también de la velocidad con que se puede restaurar un suelo deteriorado, y si es que en efecto, puede restaurarse. El cambio climático global afectará a estos procesos y necesitamos conocer mejor de qué manera los afectará. El aumento de la población mundial y los mayores requerimientos de alimentos asociados, además de las dietas más ricas por avances en las condiciones de vida en varios países en desarrollo, combinado con el uso del suelo para producir biocombustibles va a significar una presión enorme para que los sistemas agrícolas aumenten la productividad de una manera sostenible. Disponer de teorías y modelos que predigan el impacto en los cambios del uso de la tierra no solo nos ayudará a calcular un balance entre riesgos y beneficios, eventualmente nos pueden ayudar a diseñar estrategias de intervención sobre los microbiomas del suelo. Ya existen algunos inoculantes multi-organismo de uso agrícola que apuntan en esa dirección, pero es recién un comienzo.

Los microorganismos del suelo son la fuente de muchos productos de uso corriente, como enzimas biotecnológicas. Sin duda, la categoría más conocida es la de los antibióticos. En una situación donde las resistencias a los antibióticos está aumentando y la cola de productos potenciales que están probando las empresas farmacéuticas es francamente reducida, la bioprospección de microorganismos con sustancias con actividad antimicrobiana es promisoría. Los estudios realizados en la última década revelaron una biodiversidad enorme formada por gran cantidad de especies con pocos miembros por gramo de suelo, mayormente no cultivable y que es capaz de interactuar con otros microorganismos de maneras que todavía no conocemos bien. Esta es una verdadera “materia oscura” del suelo que puede constituir una fuente invaluable de productos biológicos.

La formación de los futuros microbiólogos- ecólogos.

Desde el punto de vista de la enseñanza lo expuesto en las secciones anteriores plantea un gran desafío. El primer contacto profundo que los alumnos tienen con la ecología microbiana moderna (no solo la del suelo) es hacia el final de una carrera de grado o durante los estudios de posgrado. A esa altura de sus carreras los estudiantes ya decidieron una orientación, y en consecuencia ya recibieron buena parte del entrenamiento correspondiente. Y se enfrentan con un panorama donde deben adquirir conocimientos de otras áreas e integrarlos con los que ya poseen. Hoy en día quienes trabajamos en ecología microbiana lo podemos hacer desde la ecología, la biología molecular, la química, la edafología, la estadística o la bioinformática, entre otras. Por supuesto que ningún profesional del área maneja todas estas disciplinas porque cada una de ellas exige un grado importante de especialización. Pero si deberíamos esperar que cada joven profesional tenga conocimiento de los saberes, capacidades y expectativas de sus colegas y como encajan o contribuyen a la imagen más rica y abarcadora de la ecología microbiana como ciencia de sistemas.

Finalmente es interesante notar la convergencia de métodos, conceptos y teorías que están ocurriendo entre las diferentes ramas de la ecología microbiana: la microbiología de suelo, de aguas, de ambientes extremos y de microbiomas asociados a plantas, animales y humanos. Esto sugiere

que los componentes microbianos de los diferentes ecosistemas podrían compartir ciertas características dinámicas y funcionales. Y en casi todos estos casos estamos descubriendo que cumplen roles más importantes de los que pensábamos hace sólo unos años atrás.



Figura 1. Cambios en el uso del suelo. En el plano de más atrás se observa una zona de elevaciones ocupada por selva montana. En el pedemonte se deforestó y se implantó un cultivo de caña de azúcar. La zona cultivada incluye algunos manchones de selva que se reservan como refugios biológicos (foto gentileza Mg. Olga Correa).



Figura 2. Los estudios polifásicos en ecología microbiana requieren el relevamiento de numerosos factores ambientales. En la foto se muestra una medición de temperatura del suelo a la sombra. La lectura de 26°C es un valor normal para la zona durante el mes de mayo, que es cuando se realizó esta medición (foto gentileza Mg. Olga Correa).

Referencias

1. Haegeman B, Hamelin J, Moriarty J, Neal P, Dushoff J, Weitz JS (2013) Robust estimation of microbial diversity in theory and in practice *ISME J.* 7: 1092–1101 . DOI: 10.1038/ismej.2013.10.
2. Rosselló-Móra R, Amann R (2015) Past and future species definitions for Bacteria and Archaea *Systematic and Applied Microbiology* 38: 209–216. DOI: 10.1016/j.syapm.2015.02.001.
3. Krause DJ, Whitaker RJ (2015) Inferring speciation processes from patterns of natural variation in microbial genomes *Systematic Biology* 64: 926–935. DOI: 10.1093/sysbio/syv050.
4. Blagodatskaya, E, Kuzyakov Y. (2013) Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches. *Soil Biology and Biochemistry.* 67: 192–211. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.08.024.
5. Insam, H (2001) Developments in soil microbiology since the mid 1960s *Geoderma* 100: 389–402. DOI: 10.1016/S0016-7061(01)00029-5.
6. Garland JL, Mills AL. (1991) Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization *Applied and Environmental Microbiology* 57: 2351–2359.
7. Wieder WR, Bonan GB, Allison SD (2013) Global soil carbon projections are improved by modelling microbial processes *Nature Climate Change* 3: 909–912. DOI: 10.1038/nclimate1951.
8. Schimel JP, Schaeffer SM (2012) Microbial control over carbon cycling in soil *Frontiers in Microbiology* 3 DOI: 10.3389/fmicb.2012.00348.

9. **Riesenfeld CS, Schloss PD Handelsman J** (2004) Metagenomics: genomic analysis of microbial communities *Annal Review of Genetics* 38: 525–52. DOI: 10.1146/annurev.genet.38.072902.091216.
10. **Carvalhais LC, Dennis PG, Tyson GW, Schenk M** (2012) Application of metatranscriptomics to soil environments. *Journal of Microbiological. Methods* 91: 246–51. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.08.011.
11. **Schneider T et al.** (2012) Who is who in litter decomposition? Metaproteomics reveals major microbial players and their biogeochemical functions. *ISME J.* 6: 1749–1762 .DOI: 10.1038/ismej.2012.11.
12. **Siggins A, Gunnigle E, Abram F** (2012) Exploring mixed microbial community functioning: Recent advances in metaproteomics. *FEMS Microbiology. Ecology* 80: 265–280 : DOI: 10.1111/j.1574-6941.2011.01284.x.
13. **Hultman J et al.** (2015) Multi-omics of permafrost, active layer and thermokarst bog soil microbiomes. *Nature* 521: 208–212.DOI: 10.1038/nature14238.
14. **Montecchia MS, Correa OS, Soria MA, Frey SD, García AF, Garland JL** (2011) Multivariate approach to characterizing soil microbial communities in pristine and agricultural sites in Northwest Argentina *Applied Soil Ecology.* 47: 176–183. DOI: 10.1016/j.apsoil.2010.12.008.
15. **Montecchia MS, Tosi M, Soria MA, Vogrig JA, Sydorenko O, Correa OS** (2015) Pyrosequencing reveals changes in soil bacterial communities after conversion of Yungas forests to agriculture *PLoS One* 10: e0119426 DOI: 10.1371/journal.pone.0119426.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Número 2, Año 15, Agosto 2016

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar