

## Biotecnología para el desarrollo y sostenibilidad agroindustrial del Noroeste Argentino

Castagnaro, Atilio Pedro<sup>1</sup>; Filippone, María Paula<sup>1</sup>; Noguera, Aldo Sergio<sup>1</sup>; Perera, María Francisca<sup>1</sup>; Vellicce, Gabriel Ricardo<sup>1</sup>; Mamaní, Alicia Inés<sup>2</sup>; Ontivero, Marta Inés<sup>2</sup>; Arias, Marta Eugenia<sup>3</sup>; Racedo, Josefina<sup>1</sup>; García, María Gabriela<sup>1</sup>; Paz, Nora<sup>1</sup>; Díaz, María Elena<sup>1</sup>; Sendín, Lorena Noelia<sup>1</sup>; Pardo, Esteban Mariano<sup>1</sup>; Orce, Ingrid Georgina<sup>1</sup>; Rocha, Carla María Lourdes<sup>1</sup>; Sepúlveda Tusek, Milena<sup>1</sup>; Martínez Zamora, Gustavo<sup>2</sup>; Salazar, Sergio Miguel<sup>2</sup>; Dantur, Karina Inés<sup>1</sup>; Rigano, Luciano<sup>4</sup>; Torres, Pablo<sup>4</sup>; Chalfoun, Nadia Regina<sup>2</sup>; Marano, María Rosa<sup>5</sup>; Vojnov, Adrián<sup>4</sup>; Ploper, Leonardo Daniel<sup>6</sup> y Díaz Ricci, Juan Carlos<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Sección Biotecnología, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) - Unidad Asociada al Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO; CONICET - UNT), Av. William Cross 3150, CP T4101XAC, Las Talitas, Tucumán, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO; CONICET - UNT), Chacabuco 461, CP 4000, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán (UNT), Miguel Lillo 205, C.P. 4000, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

<sup>4</sup>Fundación Pablo Cassará, Centro de Ciencia y Tecnología "Dr. Cesar Milstein", Saladillo 2468, C1440FFX, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

<sup>5</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR - CONICET). Área Virología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 531, CP 2000, Rosario, Santa Fe, Argentina.

<sup>6</sup>Sección Fitopatología, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Av. William Cross 3150, CP T4101XAC, Las Talitas, Tucumán, Argentina.

*paulafilippone@eeaoc.org.ar*

---

### ABSTRACT

In 1994, a group whose aims were both scientific research and technological development was set up. This team was inspired by the increasing demand of the agro-industrial sector in the North West of Argentina. Besides financial considerations inherent to the productive process, social and environmental issues were borne in mind when research had to be carried out. The conceptual premises of scientific work were the study, preservation and a judicious use of biodiversity; equally important was the relentless search for phytosanitary management alternatives which were friendly to both humans and the environment. Thus, in 1997, the first National Program of Strawberry Genetic Breeding in Argentina started at INSIBIO (CONICET-UNT), Tucumán. This Institute coordinated this program on a national level. Thanks to an agreement between INSIBIO and the Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), in 2002, the EEAOC's Biotechnology Department, a Unit Associated to INSIBIO, was founded. One of the main goals of this department was both to develop and adapt technologies to support institutional ongoing programs which intended not only to increase productivity but also to confer more sustainability to those agro-industries related to sugar and alcohol, soybean and citrus. And most importantly, a new scientific and technological team constituted by professionals working with other groups from different research centers nationwide came into existence. Their common goal has been the improvement of agro-industrial productive processes in order to help build a society which is fair and equitable for both the present and the future.

**Key words:** bioproducts, citrus, EEAOC, INSIBIO, molecular breeding, molecular markers, plant transformation, soybean, sugarcane, strawberry, tissue culture and micropropagation.

### RESUMEN

En 1994 se conformó un grupo de investigación científica y desarrollo tecnológico guiado por la demanda del sector agroindustrial de la región del noroeste argentino, que además de las consideraciones económicas intrínsecas del proceso productivo, tuvo en cuenta para sus investigaciones, aspectos sociales y ambientales. Las premisas conceptuales del trabajo científico fueron el estudio, la preservación y el aprovechamiento de la biodiversidad, en conjunción con la búsqueda continua de alternativas de manejo fitosanitario lo menos reñidas posible con la salud humana y ambiental. Fue así que en 1997 se inició el primer Programa Nacional de Mejoramiento Genético de la Frutilla en Argentina, que desde el INSIBIO (CONICET-UNT) en Tucumán coordinó el trabajo de grupos en otras instituciones. A partir del año 2002 mediante un convenio entre el INSIBIO y la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), se fundó la Sección Biotecnología de la EEAOC- Unidad Asociada al INSIBIO, con el principal objetivo de desarrollar y adaptar tecnologías para apoyar programas institucionales preexistentes, tendientes a incrementar la productividad con mayor sostenibilidad en las agroindustrias sucro-alcoholera, sojera, y cítrica. Sin embargo, lo más importante es que se constituyó un equipo científico y tecnológico que trabaja en forma articulada con otros grupos de filiación diversa, pero que tienen el objetivo común de mejorar los procesos productivos en la actividad agroindustrial, para contribuir a generar sociedades más justas y solidarias, no sólo en el presente sino para las futuras generaciones.

**Palabras clave:** bioproductos, caña de azúcar, citrus, cultivo de tejidos y micropropagación, EEAOC, frutilla, INSIBIO, marcadores moleculares, mejoramiento genético molecular, soja, transformación de plantas.

Con el retorno como investigadores del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) de los doctores Juan Carlos Díaz Ricci y Atilio Pedro Castagnaro en 1994 a la Universidad Nacional de Tucumán (UNT), se conformó un grupo de investigación científica y desarrollo tecnológico guiado por la demanda del sector agroindustrial de la región del noroeste argentino (NOA), que además de las consideraciones económicas intrínsecas del proceso productivo, tuvo en cuenta para sus investigaciones, aspectos sociales y ambientales. Las premisas conceptuales del trabajo científico fueron el estudio, la preservación y el aprovechamiento de la biodiversidad, en conjunción con la búsqueda continua de alternativas de manejo fitosanitario lo menos reñidas posible con la salud humana y ambiental.

En 1997 se inició el primer Programa Nacional de Mejoramiento Genético de la Frutilla en Argentina (ProFrutilla, <http://www.agencia.secyt.gov.ar>, Castagnaro y Díaz Ricci, 1999), que desde el INSIBIO (CONICET-UNT) en Tucumán coordinó el trabajo de grupos en otras instituciones como la UNNE (Universidad Nacional de Nordeste), el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), la EEAOC (Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes) y la UNLP (Universidad Nacional de la Plata). Los objetivos científico-técnicos fueron generar germoplasma y tecnología derivada de su utilización, que posibiliten un manejo sustentable de las enfermedades fúngicas del cultivo, manteniendo niveles de producción de fruta y de plantines equivalentes a los de las mejores variedades del mercado. Con ese propósito se llevaron a cabo las siguientes acciones: (i) se investigó la diversidad genética del cultivo tanto en las especies silvestres relacionadas, como en la híbrida cultivada *Fragaria x ananassa* (Ontivero et al., 2000; García et al., 2002) y se describió una nueva especie silvestre emparentada con la frutilla cultivada: *Potentilla tucumanensis* (Castagnaro et al., 1998; Arias et al., 2001); (ii) se puso en marcha un esquema de selección recurrente delimitado por el grado de domesticación, del cual se obtuvieron genotipos de alta productividad que se encuentran actualmente en proceso de registro; (iii) se estudió el control genético de la resistencia a *Colletotrichum* (Mónaco et al., 2000; Ramallo et al., 2000); (iv) se investigaron mecanismos de defensa innatos y de protección

cruzada para generar bioproductos que permitan un manejo fitosanitario alternativo a los agroquímicos de síntesis (Filippone et al., 1999; Filippone et al., 2001; Salazar et al., 2007); y (v) se ajustó un procedimiento en frutilla para la expresión de genes por ingeniería genética, el cual sirvió para incrementar la resistencia al moho gris provocado por el hongo *Botrytis cinerea* (Vellicce et al., 2003; Vellicce et al., 2006), enfermedad para la cual no se conocían fuentes de resistencia en especies que se puedan cruzar con la frutilla. Una parte de los resultados de esta investigación derivó en una solicitud de patente con la empresa Bio Sidus SA, para la formulación de un bioproducto capaz de inducir la defensa en distintos cultivos vegetales.

A partir del año 2002 mediante un convenio entre el Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO; Conicet-UNT) y la EEAOC, como consecuencia de una propuesta de esta última institución, se fundó la Sección Biotecnología de la EEAOC- Unidad Asociada al INSIBIO, con el objetivo principal de desarrollar y adaptar tecnologías para apoyar programas institucionales preexistentes, tendientes a incrementar la productividad con mayor sostenibilidad en las agroindustrias: sucroalcoholera, sojera y cítrica. Se trató de una iniciativa original en Argentina, que se propuso sacar provecho del amplio espectro de oportunidades que ofrece la biotecnología para aumentar la productividad de forma económica, social y ambientalmente más segura, a través del desarrollo de biopesticidas, de las técnicas de cultivo de tejidos y micropropagación, de la transformación genética propiamente dicha, y del análisis genómico asociado al mejoramiento genético y al diagnóstico de enfermedades mediante la utilización de marcadores moleculares (Ploper et al., 2005; Torres et al., 2007; Rigano et al., 2007a, 2007b; Martínez Zamora et al., 2008; Perera et al., 2009).

Entre las principales actividades de servicio y transferencia tecnológica que se llevan a cabo en la EEAOC se encuentra el Proyecto Vitroplantas de Caña de Azúcar, el cual provee al sector productivo desde 2001 caña "semilla" de pureza genética y sanidad garantizada, obtenida mediante las técnicas de hidro-termo-terapia, cultivo de meristemas y micropropagación *in vitro*. En la etapa de laboratorio que se lleva a cabo en la Sección Biotecnología, se producen aproximadamente 40.000 plantas anuales

de las principales variedades comerciales de caña de azúcar. Después de la rusticación, este germoplasma es multiplicado en una red de semilleros ubicados a lo largo del área cañera de la Provincia. Con este emprendimiento, hasta la fecha se lleva reemplazado más del 66% de la superficie cultivada con caña de azúcar, lo que ha tenido su correlato en el sostenido incremento de la producción azucarera en Tucumán desde la implementación del Proyecto. Tanto las plantas madres donadoras de meristemas como los plantines micropropagados y cualquier genotipo que ingresa desde el extranjero al sistema de cuarentena, son evaluados sanitariamente mediante técnicas sensibles, rápidas y reproducibles de diagnóstico molecular optimizadas en la Sección Biotecnología (Filippone et al., 2006; Paz et al., 2008). El aseguramiento de la pureza genética se realiza mediante análisis fenotípico (visual) y genotípico (con marcadores moleculares), por medio de los cuales se evalúa la ocurrencia tanto de variación somaclonal (modificaciones en la secuencia del ADN) como de cambios epigenéticos (en la expresión del ADN), modificaciones que aparecen asociadas al cultivo de tejidos y constituyen el principal inconveniente de la micropropagación masiva (Sepúlveda Tusek et al., 2008).

Por otro lado, desde el año 2005 en la EEAOC se han optimizado protocolos de biobalística para transformar dos cultivos industriales claves para la región, caña de azúcar y soja, utilizando un equipo acelerador de micropartículas. En cultivares comerciales de caña de azúcar se están introduciendo genes para incrementar la tolerancia a herbicidas y al estrés hídrico, mientras que en el caso de la soja se están expresando transgénicamente también en variedades comerciales, tanto genes que aumentan la tolerancia a la sequía, como otros que producen un acortamiento del ciclo vital del cultivo, con la intención de escapar a situaciones de sequía en ambientes agroecológicos con precipitaciones concentradas en el tiempo (Expedientes CONABIAN°: 231880/2007, S01:048218/2008 y S01:0015130/2009 en caña de azúcar; y 439959/2007, 0372524/08, 0463175/08 y 0482217/08 en soja).

Recientemente, se obtuvo financiación de la Unión Europea para organizar en el MERCOSUR un emprendimiento público-privado en el que participan instituciones y empresas de Uruguay, Paraguay, Brasil y Argentina y cuyo objetivo principal

es caracterizar genes y/o tecnologías derivadas del análisis funcional de los mismos, que puedan otorgar valor agregado al cultivo de la soja bajo estrés hídrico y sanitario. De este modo, se pretende dotar cada vez de mayor sostenibilidad al cultivo que se ha constituido en uno de los pilares de la alimentación humana y sin duda, en el más importante de la región con más de 70 millones de hectáreas (<http://www.bcr.com.ar>). Este proyecto denominado BiotecSojaSur ([www.biotecsojasur.org](http://www.biotecsojasur.org)) es coordinado desde la Sección Biotecnología de la EEAOC.

Uno de los desafíos actuales en el que estamos involucrados consiste en que a la vez que se preservan los ambientes naturales, se pueda producir suficiente cantidad de alimentos y energía renovable, que posibilite mejorar la calidad de vida de nuestra región latinoamericana. En ese contexto, la caña de azúcar que es el cultivo de todos los conocidos hasta el momento que más biomasa produce por unidad de superficie, puede tener un papel clave en alimentación humana y animal, en producción de etanol de primera y segunda generación, en la cogeneración de energía eléctrica y en otros aprovechamientos sistémicos de sus derivados.

Sin embargo, lo más importante es haber sido capaces de aprovechar la experiencia centenaria de la EEAOC y de constituir un equipo científico y tecnológico que trabaja en forma articulada con otros grupos de filiación diversa, pero que tienen un objetivo común: mejorar los procedimientos productivos en la actividad agroindustrial que fue la base del desarrollo de la humanidad, para contribuir a generar sociedades más justas y solidarias, no sólo en el presente sino para las futuras generaciones. Se trata de arrimar herramientas tecnológicas de sostenibilidad como un insumo para la ciencia política.

## BIBLIOGRAFÍA

- Arias, M.; Díaz Ricci, J. and Castagnaro, A.P. (2001). Changes in the distribution range of *Potentilla tucumanensis* (Rosaceae), an endangered cryptic species. **Bol. Soc. Argent. Bot.** 36(1-2) : 151-157. ISSN 1851-2372.
- Castagnaro, A.P.; Diaz Ricci, J.C.; Arias, M. and Albornoz, P. (1998). A new Southern Hemisphere species of *Potentilla* (Rosaceae). **Novon** 8: 333-336. ISSN 1055-3177.

- Castagnaro, A.P. y Díaz Ricci, J.C. (1999). Frutillas hechas a medida. **Super CAMPO** 52: 104-106. ISSN 0328-4247.
- Filippone, M.P.; Díaz Ricci, J.; Mamani de Marchese, A.; Fariás, R.N. and Castagnaro, A.P. (1999). Isolation and purification of a 316 Da preformed compound from strawberry (*Fragaria ananassa*) leaves active against plant pathogens. **FEBS Letters** 459:115-118. ISSN 0014-5793.
- Filippone, M.P.; Díaz Ricci, J.C.; Castagnaro, A.P. and Fariás, R.N. (2001). Effect of Fragarin on the Cytoplasmic Membrane of the Phytopathogen *Clavibacter michiganensis*. **MPMI** 14(7):925-928. ISSN 0894-0282.
- Filippone, M.P.; Noguera, A.; Salgado, M.; Viruel, E.; Perera, M.F.; Ramallo, J. y Castagnaro, A.P. (2006). Sugarcane Systemic Diseases Diagnosis at Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes (EEAOC). **Biocell**, 30 (1), pág 212. Abstract 187. ISSN 1667-5746.
- García M.G.; Ontivero M.; Díaz Ricci J.C. and Castagnaro A.P. (2002). Morphological traits and high resolution RAPD markers for the identification of the main strawberry varieties cultivated in Argentina. **Plant Breeding** 121(1):76-80. ISSN 0179-9541.
- Martínez Zamora, M.G.; Castagnaro, A.P. and Díaz Ricci, J.C. (2008). Genetic Diversity of Pto-Like Serine/Threonine Kinase Disease Resistance Genes in Cultivated and Wild Strawberries. **J. Mol. Evol.** 67: 211-21. ISSN 1432-1432.
- Mónaco, M.E.; Salazar, S.M.; Aprea, A.; Díaz Ricci, J.C.; Zembo, J.C. and Castagnaro, A.P. (2000). First Report of *Colletotrichum gloeosporioides* on Strawberry in Northwestern Argentina. **Plant Disease** 84(5):559. ISSN 0191-2917.
- Ontivero, M.; Arias, M.; Díaz Ricci, J.; Babot, J.; and Castagnaro A.P. (2000). Analysis of genetic similarities among species of *Fragaria*, *Potentilla* and *Duchesnea* found in northwest of Argentina by using morphological, anatomical and molecular characters. **Canadian Journal of Botany** 78:547-556. ISSN 0008-4026.
- Paz, N. del V.; Díaz, M.E.; Noguera, A.S.; Perera, M.F.; Sepúlveda Tusek, M.; Filippone, M.P. y Castagnaro, A.P. (2008). Producción de vitroplantas de caña de azúcar en la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes. **XV Reunión Técnica Nacional de la Caña de Azúcar**. Sociedad Rural de Tucumán. Tucumán, Argentina.
- Perera, M.F.; Filippone, M.P.; Ramallo, J.; Cuenya, M.I.; García, M.L.; Ploper, L.D. and Castagnaro, A.P. 2009. Genetic diversity among viruses associated with sugarcane mosaic disease in Tucumán, Argentina. **Phytopathology** 99(1):38-49. ISSN 0031-949X
- Ploper, L.D.; González, V.; Gálvez, M.R.; de Ramallo N.V.; Zamorano M.A.; García G. and Castagnaro, A.P. (2005). Detection of Soybean Rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* in Northwestern Argentina. **Plant Disease**, 89:774. ISSN 0191-2917.
- Ramallo, J.C.; Ploper, L.D.; Ontivero, M.; Filippone, M.P.; Castagnaro, A. and Díaz Ricci, J. (2000). First Report of *Colletotrichum acutatum* on Strawberry in Northwestern Argentina. **Plant Disease** 84(6):706. ISSN 0191-2917.
- Rigano, L.; Payette, C.; Brouillard, G.; Marano, M.R.; Abramowicz, L.; Torres, P.; Yun, M.; Castagnaro, A.P.; El Oirdi, M.; Dufour, V.; Malamud, F.; Dow, J.M.; Bouarab, K. and Vojnov, A. (2007 a). Bacterial Cyclic -(1, 2) Glucan acts in Systemic Suppression of Plant Immune Responses. **The Plant Cell** 19 (6): 2077-89. ISSN 1040-4651.
- Rigano, L.; Siciliano, F.; Enrique, R.; Sendín, L.; Filippone, P.; Torres, P.; Qüesta, J.; Dow, M.; Castagnaro, A. P.; Vojnov A. and Marano, M.R. (2007 b). Biofilm formation, epiphytic fitness and canker development in *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. **MPMI** 20 (10): 1222-30. ISSN 0894-0282.
- Sepúlveda Tusek, M.; Perera, M.F.; García, M.G.; Noguera, A.S.; Filippone, M.P. and Castagnaro, A.P. (2008). Optimization of marker techniques to estimate somaclonal variation in *in vitro* propagated sugarcane. **ISSCT IX Plant Pathology and VI Molecular Biology Workshop**. Cali, Colombia.
- Torres, P.S.; Rigano, L.A.; Russo, D.M.; Marano, M.R.; Castagnaro, A.P.; Zorreguieta, A.; Bouarab, K.; Dow, J.M. and Vojnov A.A. (2007). Controlled synthesis of the DSF cell-cell is required for biofilm formation and virulence in *Xanthomonas campestris*. **Environmental Microbiology** 9 (8): 2101-09. ISSN 1462-2920.
- Vellicce, G.; Coll, Y.; Castagnaro, A.P., and Díaz Ricci J.C. (2003) Transformation of a strawberry cultivar

using a modified regeneration medium. **HortScience**  
Vol 38(2): 277-280. ISSN 0018-5345.

Vellicce, G.R.; Díaz Ricci, J.C.; Hernández García L.  
and Castagnaro, A.P. (2006) Enhanced resistance to  
*Botrytis cinerea* mediated by the transgenic expres-  
sion of the chitinase gene ch5B in strawberry. **Trans-  
genic Research** 15:57-68. ISSN 0962-8819.

Salazar, S.M.; Castagnaro, A.P.; Arias, M.E.; Chalfoun,  
N.; Tonello, U. and Díaz Ricci, J.C. (2007). Induc-  
tion of a defense response in strawberry mediated  
by an avirulent strain of *Colletotrichum*. **European  
Journal of Plant Pathology** 117: 109-122. ISSN  
0929-1873.

- Received **02/08/2010**

- Accepted **29/08/2011**