

FIJACION BIOLÓGICA DE NITROGENO

Estrategias para su maximización

Amalia Baraibar*

1. INTRODUCCION

Tal y como se encuentra el nitrógeno en la atmósfera (N_2), no puede ser aprovechado por los organismos superiores ya que es privativo de algunas bacterias la capacidad de reducir el $N \equiv N$ a NH_3 . Este proceso es llamado FIJACION BIOLÓGICA DEL NITROGENO (FBN).

Existen diversos sistemas fijadores de nitrógeno, muchos conocidos, otros por descubrir; libres, asociados o simbióticos. La fijación simbiótica del nitrógeno provee 80% del N_2 fijado biológicamente en la tierra, siendo el proceso más eficiente y el más explotado por el hombre. La simbiosis nodular *Rhizobium/Bradyrhizobium* con las leguminosas constituye, entre las múltiples asociaciones simbióticas, la de mayor significancia para la agricultura.

Las leguminosas juegan un rol importantísimo en los sistemas sustentables, como alimento, como mejoradoras del suelo, etc. Representan una extensa familia de la cual día a día se descubren especies de interés para el hombre y un constante desafío para explotar al máximo sus capacidades de fijación de nitrógeno.

El siglo XX ha sido pródigo en conocimientos sobre la fijación simbiótica en leguminosas. Entre 1900 y 1960 se focalizó en los mecanismos de especificidad y en la actividad industrial que llevaría a la aplicación masiva de rizobios en el campo con relativo éxito. Entre 1960 y 1990, se dieron grandes avances en la comprensión de los aspectos fisiológicos, bioquímicos y moleculares de este fenómeno. Actualmente los estudios se dirigen a cuantificar las respuestas de la simbiosis en condiciones de estrés, con la finalidad de identificar las mejores combina-

ciones planta x cepa así como minimizar el impacto del estrés ambiental dando lugar a sistemas simbióticos más productivos con mínimos costos.

Pocos agricultores tienen las ventajas de producir en condiciones ideales y cada vez se siembran más leguminosas en áreas limitantes y en presencia de poblaciones naturalizadas con alta competitividad.

Algunos de estos factores limitantes serán seguidamente abordados así como las estrategias que se proponen para maximizar la FBN en esas condiciones.

2. LA ESPECIE DE LEGUMINOSA Y LA VARIEDAD

Las distintas asociaciones simbióticas presentan potenciales de fijación de nitrógeno muy variable. Esto atiende a la "composición genética" de la especie, a los materiales que se fueron manejando para obtener las variedades que se recomiendan.

En los últimos 10 años se le ha comenzado a dar importancia a la selección de leguminosas por su aptitud de fijación de nitrógeno lo que supone que el mejorador considere la inoculación al momento de instalar sus experimentos. Esto está siendo atendido principalmente en leguminosas de grano: soja, poroto, arveja, etc.

Es bien sabido también, que existen diferentes niveles de especificidad por parte de la variedad del huésped frente a determinadas cepas de *Rhizobium* o *Bradyrhizobium*. Esto es observado en soja, tréboles, alfalfa, etc. Opera un mecanismo de "preferencia" cuando se siembran soja o tréboles en suelos donde hay poblaciones nativas de diferentes

*Ing. Agr., M.Sc., Cátedra de Microbiología, Facultad de Agronomía, Universidad de la República.

orígenes. Estos mecanismos son explotados hoy en día en el sentido de la selección de parejas de simbioses con alta especificidad, o en la selección de huéspedes con “preferencia específica” que no nodulen con las poblaciones residentes en el suelo.

De esta manera se favorece en forma dirigida a la cepa del inoculante que en el año de la inoculación formará la mayoría de los nódulos.

3. LA CEPA DE RIZOBIO

Para que se instale una simbiosis exitosa, la cepa deberá poseer alta eficiencia fijadora de nitrógeno, amplio espectro de nodulación con las variedades de leguminosas recomendadas, competitividad para la formación de nódulos, sobrevivencia en la rizósfera. En las leguminosas forrajeras perennes o anuales, se pretende que la cepa introducida tenga adaptabilidad a las condiciones que impone el suelo, que persista y que presente alta movilidad para alcanzar nuevos nichos y nodular nuevas plántulas de la resiembra o estolones.

En las leguminosas de grano importa que la cepa transporte altos niveles de nitrógeno fijado, sea ureidos, sea amidas a los componentes reproductivos, movilizando nitrógeno hacia los granos y que tenga capacidad de promover altos índices de cosecha.

Solamente por medio de una cuidadosa selección de cepas que comprende pruebas de laboratorio, invernáculo y campo, se consiguen estos materiales con los que se producen los inoculantes. Esto respalda el concepto de que sólo sean empleadas cepas con antecedentes de buen comportamiento dentro del país y en la región donde serán incorporadas. Se evitará así la introducción de materiales que no se conocen, que no se adapten a las condiciones ecológicas del país, o lo que es peor, que una vez introducidos no puedan ser desplazados por materiales superiores.

4. FERTILIDAD DEL SUELO Y FERTILIZACIONES

La simbiosis *Rhizobium* - *Leguminosa* es altamente dependiente del fósforo. Los nódulos

son fuertes “sinks” de fósforo por lo que el déficit de este elemento limita el buen desempeño de la fijación biológica del nitrógeno. La fertilización con fósforo incrementa el número de nódulos, la masa nodular, la producción de materia seca de forraje y granos y la fijación de N_2 .

Algunas estrategias se plantean como alternativas complementarias, en suelos muy pobres: la selección de leguminosas que no sean tan demandantes de fósforo (ej: *Lotus subbiflorus*, *Lotus pedunculatus*) junto con la selección de cepas de rizobios tolerantes a bajo P, con alta capacidad de almacenarlo como gránulos de polifosfatos.

Respecto al nitrógeno, las leguminosas bien inoculadas contribuyen a detener el drenaje de nitrógeno del suelo. Esto ha sido demostrado en suelos de baja fertilidad donde el sistema simbiótico abastecería en casi 100% la demanda de nitrógeno del cultivo sin que se evidencien síntomas de deficiencia nutricional. Otra cosa diferente ocurre en suelos con altos niveles de nitratos. En esta situación, la leguminosa prescinde de la FBN y absorbe nitratos hasta que se agotan, sin formar o formando escasos nódulos. Información nacional establece que *Lotus corniculatus* sería la especie más sensible al nitrógeno principalmente al estado de plántula. En soja, para nuestras condiciones, no hubo respuesta a los agregados de nitrógeno mineral como starter o en el momento de llenado de granos, lo que indicaría que el sistema simbiótico se autoabastece.

5. ACIDEZ DEL SUELO

La acidez del suelo asociada o no a la presencia de Al^{+++} y Mn^{++} , y deficiencia de Ca^{++} interfieren en el crecimiento de la leguminosa y en la fijación de nitrógeno en varias de sus etapas: afectan al rizobio en vida libre, la iniciación nodular, la función de los nódulos y por lo tanto el crecimiento de la planta. Hemos observado una marcada correspondencia entre el número de cepas tolerantes a la acidez y el pH del suelo de origen. Por lo tanto una de las estrategias para mejorar el rendimiento de las leguminosas en suelos ácidos es introducir cepas tolerantes a la acidez y/o

Al⁺⁺⁺. En rizobios para Lotus estas metas se han logrado. Los genes de la tolerancia a la acidez están clonados, serían cromosómicos. Para el año 2000 uno de los desafíos será identificar y dar función a los genes asociados a la tolerancia a la acidez para mejor comprender la interacción planta bacteria bajo este stress y minimizar su impacto en la producción.

La peletización de la semilla sería una medida adecuada para proteger al inóculo hasta que se forman los nódulos, pero es localizado y de efecto momentáneo. Numerosos trabajos demuestran los efectos positivos del encalado en la producción de leguminosas de grano y forrajeras.

6. FACTORES CLIMATICOS: HUMEDAD Y TEMPERATURA

Las altas temperaturas y las condiciones de baja humedad son drásticas para la sobrevivencia de los rizobios en el suelo o en el inoculante, así como para los procesos que involucra la nodulación y fijación biológica. Las altas temperaturas y la desecación pueden significar una pérdida total de la bacteria de su capacidad de infectar o de fijar nitrógeno como fue observado en rizobios de lotus sometidos a diferentes shocks térmicos y déficit hídrico.

Se ha propuesto el empleo de huéspedes más tolerantes a altas temperaturas y déficit hídrico, con la introducción de leguminosas tropicales o subtropicales en regiones sin antecedentes de las mismas. A su vez existen varios programas de selección de cepas de rizobios termotolerantes para soja, poroto, etc. que han probado sobrevivir en el inoculante, sobre la semilla y/o en el suelo en mejores condiciones que las cepas sensibles.

7. CURASEMILLAS VS FBN

La aplicación de fungicidas es una práctica común cuando se siembra soja, arveja, poroto y que se está haciendo cada vez más común con las semillas forrajeras. Se citan importantes efectos de los fungicidas en la germinación y en el vigor de las plantas.

No todos los fungicidas son compatibles con el rizobio por lo que ante la aparición de nuevos productos sería deseable conocer estos aspectos. Dependiendo del sistema simbiótico y de la cepa, el daño de los curasemillas al rizobio puede ir desde la reducción de las poblaciones sobre la semilla hasta afectar por completo la nodulación o que los escasos nódulos que alcancen a formarse no sean suficientes para abastecer las demandas de nitrógeno de las plantas.

Se propone hoy día la selección de cepas tolerantes a fungicidas y a antibióticos que mantengan sus otras cualidades así como el empleo de fungicidas que no afecten al rizobio, como estrategias para tornar compatibles estas dos prácticas agrícolas. En otros países, se han implantado con buenos resultados.

8. ¿PORQUE REINOCULAR?

Dependiendo del tipo de leguminosa, la reinoculación se efectuará año tras año a cada 3 ó 4 años. En este período de permanencia del rizobio en el suelo, varios factores edáficos o climáticos pueden haber contribuido con la modificación genética de la bacteria inicialmente introducida: pérdida de genes de nodulación y/o fijación de nitrógeno, etc.

El objetivo de la reinoculación es siempre introducir cepas seleccionadas, más específicas, más efectivas, con alta capacidad de competir por sitios de nodulación, que desplacen los rizobios nativos.

La reinoculación permite además aplicar masivamente y en forma localizada sobre la semilla, estos rizobios seleccionados, favoreciendo su competitividad frente a los residentes.

Las recomendaciones actuales apuntan a la obtención de pares simbiotes con alta eficiencia y especificidad hospedera y la dinámica de introducción de nuevas cepas con características especiales para las diferentes regiones es cada vez mayor.

Por lo tanto se tiende a desmerecer lo que pueda ser el aporte de las cepas residentes, apostando al empleo de inoculantes con cepas conocidas y evaluadas de las que se

conozca de antemano que respuesta darán en la planta.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- ALEXANDER, M. ED.** 1980. Advances in microbial ecology. New York, Plenum.
- ALEXANDER, M.** 1985. Ecological constraints on nitrogen fixation in agricultural ecosystems. *Adv. Microb. Ecol.* 8:163-183.
- HERRIDGE, D.F.; ROUGHLEY, R.J.; BROCKWELL, J.** 1984. Effects of rhizobia and soil nitrate on the establishment and functioning of the soybean symbiosis in the field. *Aust. J. Agr. Res.* 35:149-161.
- HERRIDGE, D.F.; ROUGHLEY, R.J.; BROCKWELL, J.** 1987. Low survival of *Rhizobium japonicum* inoculant leads to reduced nodulation, nitrogen fixation and yield of soybean in the current crop but no in the subsequent crop. *Aust. J. Agr. Res.* 38:75-82.
- ISRAEL, D.W.; WOLLUM, A.G.-II; MATHIS, J.N.** 1988. Relative performance of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* strains under different environmental conditions. *ISI Atlas of Science: Animal and Plant Sciences* 1(1): 95-99.
- NEWTON, W.E.; ORME-JOHNSON, W.H.** 1980. Symbiotic associations and cyanobacteria. In: *International Symposium on Nitrogen fixation* (3rd. 1978, Madison, Wisconsin). Nitrogen fixation. Baltimore, University Park Press. v. 2.
- NUTMAN, P.S., ED.** 1975. Symbiotic Nitrogen fixation in plants. Cambridge, NY, Cambridge University Press. *International Biological Programme* N° 7.
- SOMASEGARAN, P.; REYES, P.; HOBEN H.J.** 1984. The influence of high temperatures on the growth and survival of *Rhizobium* spp. in peat inoculants during preparation, storage and distribution. *Can. J. Microb.* 30:23-30.
- VINCENT, J.M.; THOMPSON, J.A.; DONOVAN, K.O.** 1962. Death of root-nodule bacteria on drying. *Aust. J. Agr. Res.* 13:258-270.
- VINCENT, J.M.** 1979. A manual for the practical study of root nodule bacteria. Oxford, Blackwell. *IBP Handbook* N° 15.
- WILSON, J.R. ED.** 1978. Plant relations in pastures. Melbourne. CSIRO.
- WOOD M.; COOPER, J.E.** 1985. Screening clover and Lotus rhizobia for tolerance of acidity and aluminium. *Soil Biol. Biochem.* 17(4):493-497.