

ECOLOGIA DEL RHIZOBIUM EN LA REGION NORESTE

Horacio E. Russell*

INTRODUCCION

En un escenario ganadero que requiere incrementar su competitividad, mantienen relevancia aquellas acciones que enfatizan en el mejoramiento de pasturas mediante la introducción de leguminosas fijadoras de nitrógeno por vías biológicas (FBN). La creciente necesidad de paquetes tecnológicos sostenibles, convierte a las tecnologías de la inoculación en válidas y viables alternativas para introducir leguminosas en ambientes pastoriles que presentan limitantes de diversa índole e intensidad.

La formulación de tecnologías que incluyen el uso de asociaciones simbióticas más adaptadas, permitirá superar los actuales niveles de implantación y persistencia de las leguminosas y optimizar los aportes de la FBN en el noreste del país.

Las investigaciones realizadas han potenciado la formulación de estrategias productivas que establecidas mediante un enfoque sistémico y que basadas en sólidos criterios ecológicos pretenden incrementar la contribución forrajera de las leguminosas en los sistemas extensivos. Actualmente se realizan diversos estudios rizobiológicos para conocer la influencia ejercida por las poblaciones nativas y destinados a profundizar en la dilucidación sobre la evolución de cepas introducidas que componen mejoramientos longevos de pasturas.

IMPLANTACION Y PERSISTENCIA DE LA SIMBIOSIS

La introducción exitosa de leguminosas en los sistemas pastoriles depende del normal

establecimiento de la simbiosis, con componentes adaptados y altamente dependientes del FBN. La implantación de los mejoramientos debe ser siempre asegurada mediante la provisión en los inoculantes de bacterias seleccionadas que se encuentren facultadas genéticamente para establecer una estrecha relación simbiótica que funcione eficazmente en ambientes limitantes. Para hacer un eficiente uso de la FBN por medio de asociaciones simbióticas adaptadas y específicas para ambientes particulares, es necesario considerar que:

* en la planta y en etapas previas a la implantación definitiva de los mejoramientos, es imprescindible establecer una perfecta adecuación genética entre la leguminosa y la cepa del inoculante. Numerosos genes se encuentran involucrados en las etapas primarias del establecimiento simbiótico y su expresión plena será el resultado de complejas interacciones genotipo ambiente.

* en el cultivo es necesario adecuar los factores ambientales para promover el desarrollo normal de las leguminosas. En los ambientes extensivos existen variadas limitantes: acidez y bajo nivel de fosfatos en los suelos, agresividad de las gramíneas nativas, presencia de antagonistas biológicos, desecación superficial, extremos de temperaturas, etc.; que afectan a ambos componentes simbióticos y que conjuntamente determinarán el éxito de tecnologías que promueven los mejoramientos con leguminosas.

En un sistema pastoril altamente dependiente de la FBN, el funcionamiento normal de la simbiosis será el resultado de interacciones favorables entre la planta y la bacteria y de ambos componentes con el ambiente físico-químico y biológico.

* Ing. Agr., Proyecto Rizobiológico /FPTA/INIA, Facultad de Agronomía.
Trabajos conjuntos realizados con la Ing. Agr., M.Sc., Amalia Baraibar y la Lic. Sandra Castro.

Los costos energéticos y de otros nutrientes que son muy altos en el proceso de la FBN deben necesariamente ser provistos por la leguminosa, muchas veces comprometiendo su propia persistencia en el tapiz.

En los sistemas pastoriles extensivos, sólo existen dos caminos posibles para lograr un normal funcionamiento de las asociaciones simbióticas:

- * en etapas primarias de los mejoramientos y/o cuando se utilizan bajos niveles de insumos, seleccionar y desarrollar ecotipos de bacterias y leguminosas tolerantes a las adversidades ambientales.

- * cuando las limitantes existentes han sido parcial o totalmente superadas, seleccionar aquellas asociaciones simbióticas más productivas en esos ambientes mejorados.

En las áreas ganaderas del noreste del país, que presentan muchas de las limitantes antes señaladas, el primer camino señalado constituye la estrategia elegida pese a que esta alternativa en etapas primarias de los mejoramientos no permita alcanzar el máximo potencial de fijación de nitrógeno atmosférico. Para ello precisamos establecer asociaciones simbióticas bien adaptadas que se comporten como pioneras en los tapices y que progresivamente colonicen nuevos espacios naturales.

RESPUESTAS A LA INOCULACION

Para la obtención de respuestas favorables a la inoculación deben simultáneamente tenerse en cuenta varios aspectos claves como:

- * la especificidad y la eficiencia de las bacterias presentes en los inoculantes.

- * la habilidad competitiva de las cepas introducidas frente a poblaciones nativas.

- * la aptitud de las leguminosas para depender de la simbiosis y para nutrir a los bacteroides nodulares.

- * las limitantes edáficas que influyen a ambos componentes simbióticos.

- * los factores de manejo agronómico que atenúen o superen las limitantes preexistentes.

ESPECIFICIDAD Y EFICIENCIA SIMBIOTICA

A la capacidad de un rizobio para inducir la formación de nódulos se le denomina infectividad. Llamamos eficiencia simbiótica a la capacidad de fijación de nitrógeno y necesariamente implica en condiciones ambientales no limitantes, una respuesta favorable en la leguminosa.

La especificidad simbiótica se refiere al grado de afinidad genético-ambiental existente entre ambos componentes simbióticos para nodular y posteriormente fijar abundante nitrógeno. Se pueden describir tres niveles de especificidad simbiótica:

- * especificidad para la formación nodular
- * especificidad para la fijación de nitrógeno
- * especificidad diferencial

Este último nivel es el que nos interesa y se refiere a la existencia de cepas que nodulan eficazmente a una especie o cultivar, pero que entre ellas presentan diferencias en el grado de eficiencia en fijación de nitrógeno. Al considerar este tercer nivel de especificidad simbiótica con la eficiencia simbiótica. En este caso, el resultado buscado será la expresión fenotípica de una exitosa interacción genotípica planta-bacteria en condiciones ambientales parcialmente limitantes. Generalmente encontramos en las evaluaciones un orden o «ranking» que varía de acuerdo con las especies o cultivares de leguminosas.

HABILIDAD COMPETITIVA Y COMPETENCIA SAPROFITICA

Una característica de las cepas de los inoculantes que afecta tanto la implementación como la persistencia de las leguminosas introducidas, se refiere a la habilidad que estas presenten para competir por los sitios de infección radicular, en especial con poblaciones nativas. La habilidad competitiva para producir nódulos es un carácter específico de cada cepa y generalmente no se encuentra relacionada con la capacidad de fijación de nitrógeno. La capacidad de competencia de una cepa, puede ser relacionada a la presen-

cia de otros componentes de la biomasa microbiana de los suelos u de otros antagonistas presentes en los soportes de los inoculantes.

La habilidad de una cepa para persistir en el suelo en ausencia de la leguminosa es otro carácter de interés práctico indudable. Su importancia radica en determinar la sobrevivencia de aquellas especies de resiembra anual y en afianzar el desarrollo de aquellas leguminosas perennes que anualmente renuevan abundantemente sus raíces.

En nuestras condiciones ecológicas, la habilidad que presente una cepa para crecer y persistir en condiciones de competencia, merece especial consideración, sobretodo en aquellas situaciones donde las cepas introducidas deberán soportar la ocurrencia de factores ambientales adversos.

APTITUD SIMBIOTICA DE LAS LEGUMINOSAS

Para poder hacer un eficiente uso y manejo de la FBN debemos reconocer también el rol que desempeña la leguminosa en el establecimiento y en el normal funcionamiento de la simbiosis. En las diferentes etapas del proceso simbiótico, es la leguminosa quien tiene reservado un papel más relevante como huésped del rizobio y como factor determinante para la formación de nódulos fijadores. Las leguminosas en etapas primarias de la simbiosis, tienen la habilidad para distinguir entre cepas afines y no afines. El reconocimiento que ellas pueden ejercer sobre los rizobios está asociado con la compatibilidad genética existente entre ambos simbioses, pudiendo de esa forma realizar un proceso selectivo en la naturaleza. En el caso de los tréboles, es muy conocida la afinidad existente entre diversas especies con ciertos grupos de plantas que presentan lo que denominamos como una especialización simbiótica extrema, todo ello como resultado de una evolución filogenética asociada con determinadas cepas bacterianas. Como ejemplo, es reconocida la incompatibilidad simbiótica existente entre los tréboles de origen europeo o mediterráneo y las especies nativas del África. De manera análoga, esta conocida selec-

tividad específica, en nuestras praderas naturales, ha constituido una limitante biológica muy singular que ha afectado severamente a los tréboles introducidos desde la década del 60.

En el caso del género *Lotus*, en cambio, no existe tal grado de especialización simbiótica; contando con la ventaja de que las cepas nativas preexistentes en nuestros suelos, no se constituyen en barreras biológicas tan fuertemente limitantes para el establecimiento de especies introducidas. En este género, actualmente, los esfuerzos se dirigen al establecimiento de asociaciones simbióticas más afines entre grupos de cepas eficientes de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*. Las investigaciones realizadas han permitido detectar pares simbióticos específicos en función del tipo de huésped. En tal sentido, se han establecido requerimientos simbióticos diferenciales que no resultan tan estrictos como en el caso de los tréboles. Mientras *L. corniculatus* y *L. tenuis* establecen una relación simbiótica más compatible con cepas de crecimiento rápido de la especie *Rhizobium loti*; *L. subbiflorus* y *L. pedunculatus* tienen preferencia por cepas de crecimiento lento de la especie *Bradyrhizobium* sp. *biovar loti*. Pese a la existencia de incompatibilidad entre poblaciones de cepas de crecimiento rápido con *L. subbiflorus* y *L. pedunculatus*, la inoculación con cepas más afines, aún en situaciones de competencia, representa ventajas para estas leguminosas en cuanto a la implantación y la persistencia en el tapiz. Es de destacar, también, que las cepas que pertenecen al género *Bradyrhizobium* tienen la capacidad de alcalinizar los medios de cultivo, hecho que se encuentra vinculado con su mayor habilidad para sobrevivir en suelos ácidos.

SELECCION DE CEPAS ADAPTADAS

Para poder obtener cepas adaptadas a ambientes particulares, es necesario considerar varios criterios de selección en forma conjunta. Metodológicamente, para ello, es necesario efectuar evaluaciones de cepas donde se reproduzcan fielmente las propiedades del ambiente edáfico de los lugares donde

van a ser realizadas las introducciones de leguminosas.

Pese a que hoy poco se conoce sobre los parámetros ecológicos que determinan el éxito global de la sobrevivencia de una bacteria en el suelo, es conocido el hecho de que fenómenos genéticos como la selección natural, las mutaciones y las recombinaciones génicas, actúan a nivel local en nichos ecológicos muy diversos. Como resultado de estos fenómenos, en diversos ambientes pastoriles del país se han ido generando ecotipos de plantas y bacterias asociadas adaptadas. La detección y la caracterización de esas poblaciones y la selección de sus componentes superiores, se convierten en herramientas eficaces para mejorar el establecimiento y las persistencia simbiótica.

Para la selección de cepas adaptadas, la estrategia adoptada, ha consistido en detectar poblaciones adaptadas en mejoramientos longevos y posteriormente identificar componentes que presenten un superior comportamiento o una expresión fenotípica más favorable en situaciones parcialmente limitantes. Las evaluaciones simbióticas que incluyen sucesivas etapas de evaluación agronómica, enfatizan en la detección de fenotipos tolerantes a suelos ácidos, con bajo nivel de fosfatos y que constituyen condiciones de fertilidad natural media a baja y en algunas circunstancias en presencia de aluminio intercambiable. Los aislamientos de las cepas originalmente se realizan en medios de cultivo ácido, que permiten desde el inicio de las evaluaciones realizar caracterizaciones por tolerancia a la acidez. Las evaluaciones agronómicas realizadas en presencia de la leguminosa y en sucesivas etapas de laboratorio, invernáculo y campo, permiten identificar muy claramente aquellas asociaciones simbióticas más promisorias. Paralelamente con las actividades de selección de cepas se realizan tareas de identificación serológica de las cepas en evaluación, y asimismo como herramienta básica en estudios ecológicos de competencia y persistencia en los suelos.

RESULTADOS OBTENIDOS

Los avances realizados han sido muy alentadores, disponiéndose en la actualidad de cepas seleccionadas adaptadas y a su vez de metodologías que permiten profundizar en estudios ecológicos muy particulares de la región noreste del país.

Las mejores perspectivas se observan en el género *Lotus*, donde se ha logrado seleccionar cepas adaptadas que presentan alta especificidad simbiótica y que presentan la capacidad de establecer una simbiosis efectiva y altamente dependiente de la FBN.

Para *L. corniculatus* se han caracterizado y seleccionado cepas de *Rhizobium loti* adaptadas a la acidez y a la presencia de aluminio intercambiable, que permitirán mejorar el establecimiento de esta leguminosa en condiciones adversas.

Para *L. subbiflorus* se dispone de cepas naturalizadas de *Bradyrhizobium* sp. *biovar loti* que han demostrado un excelente comportamiento en la implantación y han persistido normalmente. Estas cepas han sido seleccionadas por su adaptación para tolerar la acidez, para soportar bajos niveles de fosfatos en los suelos y para competir exitosamente con poblaciones de cepas *R. loti* de rápido crecimiento.

En *L. pedunculatus* fue posible corroborar el buen comportamiento de un grupo de cepas aisladas en este mismo huésped, que demostraron ser específicas para el mismo y que presentaron un superior desempeño en los luvisoles ácidos de Tacuarembó.

Metodológicamente, se ha avanzado en la evaluación y en la identificación de cepas. Los avances realizados permiten, al presente, encarar estudios profundos sobre la ecología de los rizobios en tréboles, tendientes a caracterizar situaciones limitantes desde el punto de vista rizobiológico y a su vez identificar soluciones que permitan mejorar el establecimiento simbiótico y de esa manera asegurar la implantación de los mejoramientos.

BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER M.** 1984. Ecology of *Rhizobium*. In: Biological Nitrogen Fixation. Plenum Press. New York & London.
- ALLEN O.N.; ALLEN E.K.** 1981. The Leguminosae. A Source book of characteristics, uses, and nodulation. The Univ. of Wisconsin Press, Madison USA
- BROCKWELL J.** 1980. Experiments with crop and pasture legumes principles and practice. In: Bergersen F.J. Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation. John Wiley & Sons Ltd.
- BOTTOMLEY P.J.** 1993 Ecology of *Bradyrhizobium* and *Rhizobium*. En Stacey G., Burris R.H. y Evans H.J. (Eds.) Chapman & Hall.
- SPRENT J.I.** 1979. Nitrogen fixation and agriculture. In: Wilkins M.B., (ed.), The biology of nitrogen-fixing organism. Mc Graw Hill Book Company Ltd. London.
- VINCENT J.M.** 1982. Nitrogen Fixation in Legumes. Academic Press. Sydney. Australia.
- WACEK J.** 1994. *Rhizobium* species associated with Lotus. In: Proceedings of the First International Lotus Symposium. Missouri Botanical Gardens St. Louis, Missouri. USA.
- WOOMER P., BOHLOOL B.B.** 1989. Rhizobial ecology in tropical pasture legumes. In: Marten G.C. *et al.*, (eds). Persistence of forage legumes. American Society of Agronomy. USA.