

FIJACION SIMBIOTICA DEL NITROGENO EN ALFALFA

Alfonso Herrera O.*

INTRODUCCION

La mayoría de las plantas pertenecientes a la familia Fabaceae, mejor conocidas como leguminosas, pueden captar todo o casi la totalidad del nitrógeno que necesitan, directamente desde la atmósfera, a través del proceso denominado "Fijación simbiótica de nitrógeno". Para realizar este proceso estas plantas se unen a bacterias específicas del género Rhizobium quienes poseen genes y producen enzimas que les permiten penetrar al interior de los pelos radicales de la leguminosa, e inducir tumores o nódulos, lugar donde se realiza la captación del N₂ del aire.

Queda claro que para que ocurra la fijación de nitrógeno por simbiosis deben concurrir dos componentes como lo son el macro y el micro simbiote, planta y bacteria respectivamente. Ello no siempre ocurre porque los rizobios no siempre están en el suelo en la oportunidad que se requieren o se encuentran en cantidades insuficientes para una buena nodulación de las plantas.

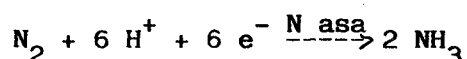
La práctica agrícola de inoculación de las semillas de leguminosas al momento de la siembra no sólo asegura que la simbiosis leguminosa-rizobio se establezca, sino que da certeza que las bacterias fijadoras de nitrógeno que dan origen a los nódulos radiculares sean de la mayor eficiencia y que se obtenga con ello la más alta productividad de las plantas.

*: Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de Concepción, Chillán.

EL PROCESO DE SIMBIOSIS

Entre las leguminosas cultivadas, la alfalfa constituye una de las que presenta el mayor índice de fijación de N (Cuadro 1), con un rango que varía entre 113-297 kg de N/ha/año. Esta gran eficiencia se traduce en una forrajera de alto valor nutritivo, rica en proteínas digestibles y en una planta mejoradora del suelo, por la gran cantidad de N que deja en los suelos en donde se cultiva ya sea sola o asociada a gramíneas (Cuadro 2).

La fijación de nitrógeno al interior de los nódulos de las raíces se debe a que una enzima del rizobio, la nitrogenasa, tiene la capacidad de reducir el nitrógeno molecular de la atmósfera y transformarlo en NH_3 que la planta metaboliza y transforma en aminoácidos y proteínas que van a formar tejidos y frutos o semillas del vegetal. La ecuación que representa el proceso es la siguiente:



Para que la fijación de nitrógeno atmosférico funcione con eficiencia, es necesaria la concurrencia de ambos componentes y que se den las condiciones para optimizar el comportamiento de los simbioses, planta y bacteria. En este trabajo nos limitaremos al análisis de los principales factores que determinan el comportamiento del microsimbionte.

Los rizobios son bacterias que viven normalmente en el suelo como saprófitos y su número se incrementa fuertemente cuando encuentran las leguminosas que son sus hospederos habituales. Sin embargo, los rizobios que entran en simbiosis con una leguminosa en particular pueden estar ausentes o su número demasiado escaso, como para asegurar una buena nodulación de las plantas cuando se desea establecer una pradera de leguminosa en particular.

En el caso particular de la alfalfa, cuya especie microsimbionte es el Rhizobium meliloti, los hospederos alternativos en suelos que no han

CUADRO 1- NITROGENO FIJADO POR HECTAREA POR HECTAREA POR AÑO POR
LEGUMINOSAS CULTIVADAS.

	Kg n2 fijado/ha/año
Alfalfa	113-297
Trébol rosado	75-171
Arveja	72-132
Soya	57-105
Chícharo	57-117
Vicia	79-140

CUADRO 2- FIJACION DE NITROGENO Y GANANCIA DE NITROGENO, NEW YORK, U.S.A.

CULTIVO	N cosechado en el cultivo en 4 años	N en Suelo		Balance de N*	
		Inicial	a los 4 años	4 años	Inicial
----- kg/ha -----					
Timothy	140	2780	2700	40	10
Bromo	118	2840	2780	38	9.5
Timothy + N**	429	2720	2780	-131	-33
Bromo + N**	478	2800	2880	- 62	-16
Timothy + Trébol	695	2800	2860	735	184
Bromo + Alfalfa	1044	2780	2800	1044	261
Lotera	722	2820	2900	782	196
Alfalfa	1023	2840	2880	1013	261

* Ganancia o pérdida de N toma en cuenta el N removido por el cultivo, los cambios de N en el suelo y agregado como fertilizante

** Recibieron 620 kg/ha de N. Los otros recibieron 20 kg de N.

sido cultivados con alfalfa son escasos y corresponden a tres géneros: Medicago, Melilotus y Trigonella. Sólo del primero encontramos representantes en los suelos chilenos ya que, aparte de la alfalfa Medicago sativa, encontramos Medicago polymorpha, Medicago arábica, Medicago lupulina y otras de muy escasa ocurrencia.

Todas las especies nombradas establecen simbiosis con la misma especie de rizobio, pero la frecuencia con que se les suele encontrar en los suelos con aptitudes para alfalfa, es mucho menor de lo que sería deseable para mantener una población significativa que no haga indispensable tener que preocuparse de la inoculación, cada vez que se quiere establecer alfalfa en un potrero.

Trabajos que está realizando nuestra Facultad en prospección y recuento de bacterias fijadoras de N en alfalfa, han mostrado la escasísima población de hualputras en suelos regados de la zona, con recuentos de 0 bacterias del grupo de la alfalfa en más del 90% de ellos.

ALGUNOS FACTORES DEL SUELO QUE CONDICIONAN LA CANTIDAD DE RIZOBIOS

Acidez o pH

Muchos estudios han mostrado la estrecha relación que existe entre el nivel de acidez en el suelo y la cantidad y eficiencia de las cepas de rizobios asociadas a la alfalfa. Si bien se ha encontrado que hay cepas que forman nódulos que fijan N a pH entre 5.0 - 5.5, la mayoría no lo hace porque el número de bacterias decrece notablemente con la acidez y la eficiencia del proceso simbiótico se ve afectado negativamente. Sólo a valores de pH cercanos a la neutralidad: 6,5 - 7,5 hay una flora abundante y la fijación se efectúan a valores altos. Este hecho debe ser debidamente sopesado por los agricultores sureños en cuyos suelos la acidez puede ser un limitante severo en el éxito de sus empastadas a base de alfalfa.

Nivel de nutrientes

No es el objetivo de este trabajo destacar el rol que le cabe a cada uno de los nutrientes que necesita una planta como la alfalfa, pero haremos resaltar a aquellos que toman parte activa en el proceso de fijación de nitrógeno. El fósforo, calcio, magnesio, cobalto, molibdeno y nitrógeno constituyen los nutrientes claves en el fenómeno simbiótico.

El fósforo es el nutriente energético por excelencia, las leguminosas lo requieren en grandes cantidades, la simbiosis no funciona a bajos niveles de este elemento. En suelos "trumaos" puede ser la principal limitante para la nodulación y el crecimiento de las plantas. Experiencias en invernaderos muestran que con el equivalente a 316 unidades de fósforo el proceso simbiótico recién comienza a funcionar con eficiencia. Una falta de fósforo en el suelo se puede traducir en una acumulación anormal de nitrógeno y a un pobre desarrollo de la pradera.

El calcio y el magnesio están relacionados con el proceso simbiótico mediante la actividad fotosintética y como corrector de la acidez, en el caso del calcio.

El cobalto y molibdeno forman parte de la enzima nitrogenasa responsable de la reducción del nitrógeno contenido en el aire y su conversión en amonio, aminoácidos y proteínas vegetales. Especial cuidado hay que tener con el molibdeno que se hace insoluble con la acidez del suelo.

Hemos dejado deliberadamente para el final el rol que desempeña el N en el proceso simbiótico. Este es un nutriente de uso común por parte de los agricultores en sus cultivos y no siempre su uso se ve compensado con mayores rendimientos; este es el caso de las leguminosas en las cuales el nitrógeno aplicado al cultivo se comporta como represor de la actividad de la enzima nitrogenasa encargada de captar nitrógeno del aire e incorporarlo a los nódulos desde donde la planta lo metaboliza al resto de su estructura productiva (Cuadro 3).

CUADRO 3- EFECTO DE NITROGENO AMONIAICAL SOBRE LA FIJACION DE NITROGENO

ADICION (mg N/maceta)	Fuente de N para la planta		Porción de N desde el aire (%)
	Fertilizante (mg)	Aire (mg)	
SOYA			
0	0	1639	100
80	68	1692	95
320	252	2243	89
560	464	2185	82
800	648	2423	79
TREBOL LADINO			
0	0	188	100
80	63	234	75
320	282	159	35
560	527	98	15
800	609	82	12

El uso continuo de fertilizante nitrogenado provoca un cambio significativo en la flora del suelo en desmedro de las leguminosas que pueden ser los hospederos alternativos de los rizobios del suelo. La baja población de hualputras en los suelos regados de la zona podría estar relacionada con el uso intensivo de fertilizantes nitrogenados en los cultivos realizados en los últimos años.

En la Universidad de Concepción se han realizado una serie de ensayos, en leguminosas inoculadas bien noduladas, todos sin excepción han mostrado el efecto deprimente del nitrógeno sobre la nodulación, disminuyendo el número de nódulos por planta y la actividad nodular traducida en una menor fijación y disminución de los rendimientos.

Temperatura y materia orgánica

La temperatura del suelo pasa a ser muy importante cuando se sobrepasan los niveles normales dentro de los cuales la fijación simbiótica se desarrolla: 10-30° como promedio con una óptima en 25°. La temperatura elevada 60-70° suele ser letal para los rizobios cuando se produce en suelos con alta humedad. Temperaturas sobre 28°C suelen ser dañinas para la actividad enzimática y bajo 17° el metabolismo de las plantas se hace lento y puede producirse excreción de nitrógeno hacia el suelo por las raíces.

Se ha visto que aún más importante que la alta temperatura suele ser el letal efecto de los rayos directos del sol sobre los rizobios en semillas inoculadas que quedan descubiertas sobre el suelo.

La materia orgánica del suelo influye en el efecto que los cambios acentuados de temperatura pueden tener sobre la nodulación y la fijación de nitrógeno, ya que no sólo sirve como amortiguador de estos cambios, sino que también mejora las condiciones físicas en el suelo en donde se desarrollan las raíces y se forman los nódulos. Gran importancia tiene este aporte de la materia orgánica en aumentar el intercambio gaseoso entre estas raíces y la atmósfera circundante.

Otro aporte importante de la materia orgánica del suelo se debe a que aumenta su fertilidad, hay mayor intercambio de nutrientes y la flora bacteriana de rizobios sobrevive gracias a ellos en ausencia de los hospederos específicos.

NECESIDAD DE INOCULAR LAS SEMILLAS

Como hemos visto, existen factores que no podemos controlar o condiciones óptimas para la fijación de nitrógeno que no podemos proporcionar. Pero nos queda la posibilidad de ponernos a cubierto de situaciones desfavorables mediante el uso de la técnica, recomendada universalmente en leguminosas, de inocular las semillas con cepas de rizobios previamente seleccionados no sólo por su mayor eficiencia, sino también por un mejor ajuste a las condiciones locales (Figura 1 y 2).

Existen miles de experiencias en todo el mundo que señalan las ventajas de la inoculación de semillas sobre todo en leguminosas que no se cultivan habitualmente en una zona o cuando se introducen por primera vez en un determinado potrero. Mayor razón para inocular existe cuando el grupo de inoculación cruzada de la leguminosa que queremos introducir es muy estrecho y hay poco o ningún hospedero alternativo.

Es normal que el agricultor desconozca la secuencia de cultivos anteriores en un determinado lugar y menos antecedentes tiene aún, de la calidad de cepas de rizobios nativos específicos para una leguminosa determinada, si es que ellos existen en el suelo.

Como último argumento diremos que es una técnica de muy bajo costo que no justifica correr algún tipo de riesgo.

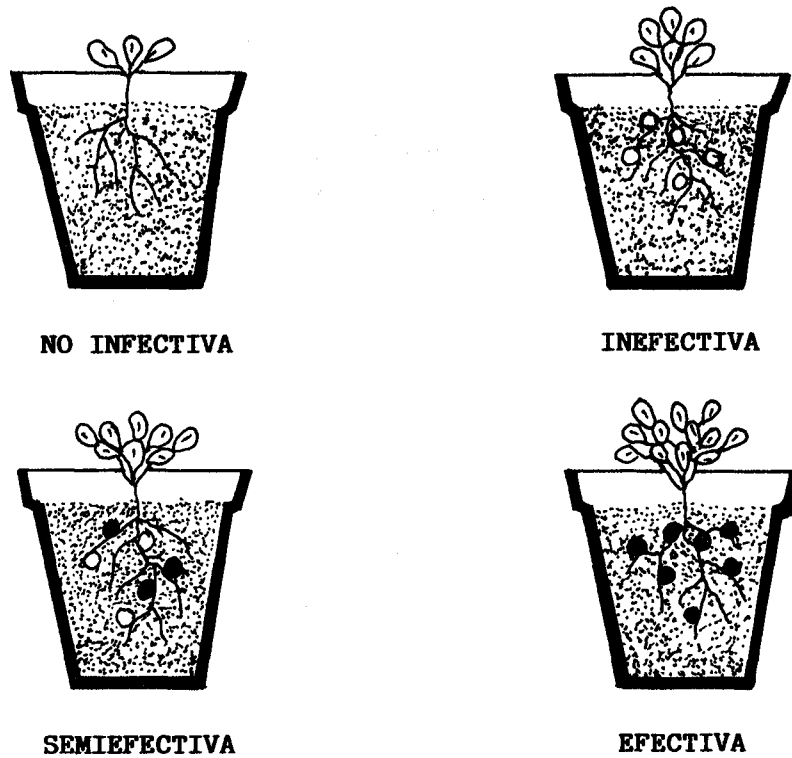


FIGURA 1- LAS CEPAS NO INFECTIVAS NO FORMAN NODULOS CON LA LEGUMINOSA HOSPEDANTE. LAS CEPAS INFECTIVAS PUE DEN ESTABLECER UNA SIMBIOSIS INEFECTIVA, SEMI - EFECTIVA O EFECTIVA CON LA LEGUMINOSA HOSPEDANTE.

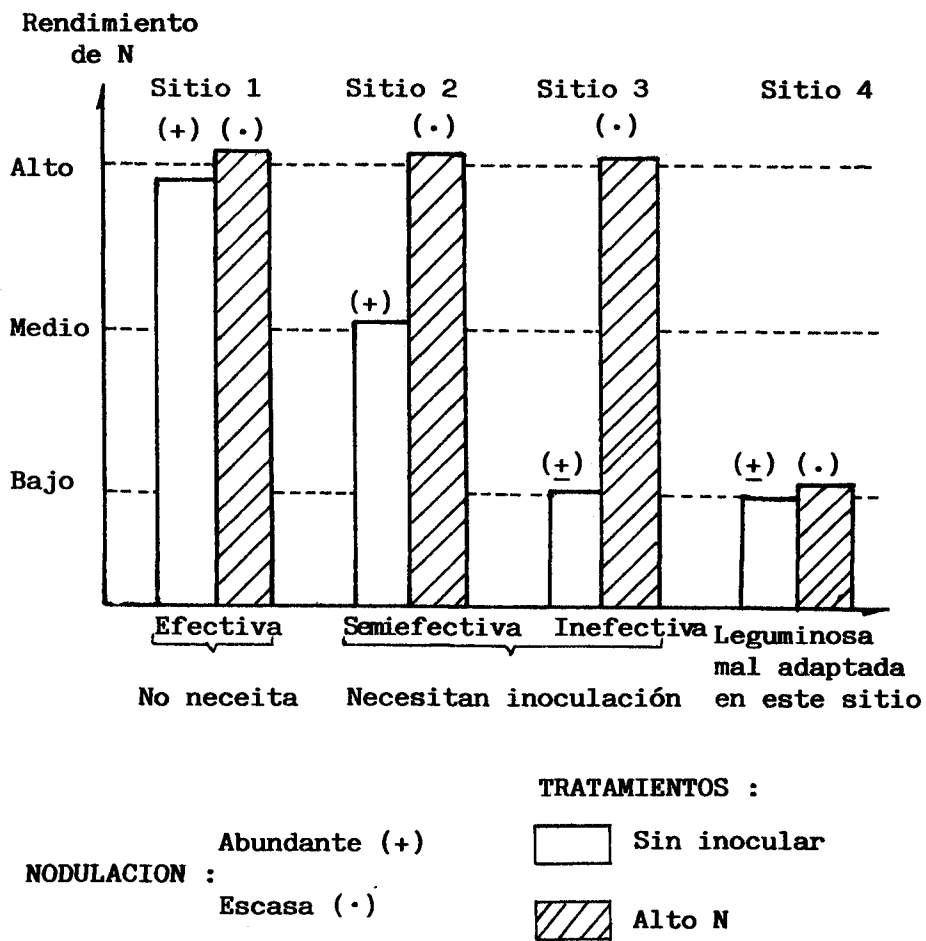


FIGURA 2- EFECTIVIDAD DE LA SIMBIOSIS DE UNA MISMA ACCESION DE LEGUMINOSA CON CEPAS NATIVAS EN SUELOS DIFERENTES.

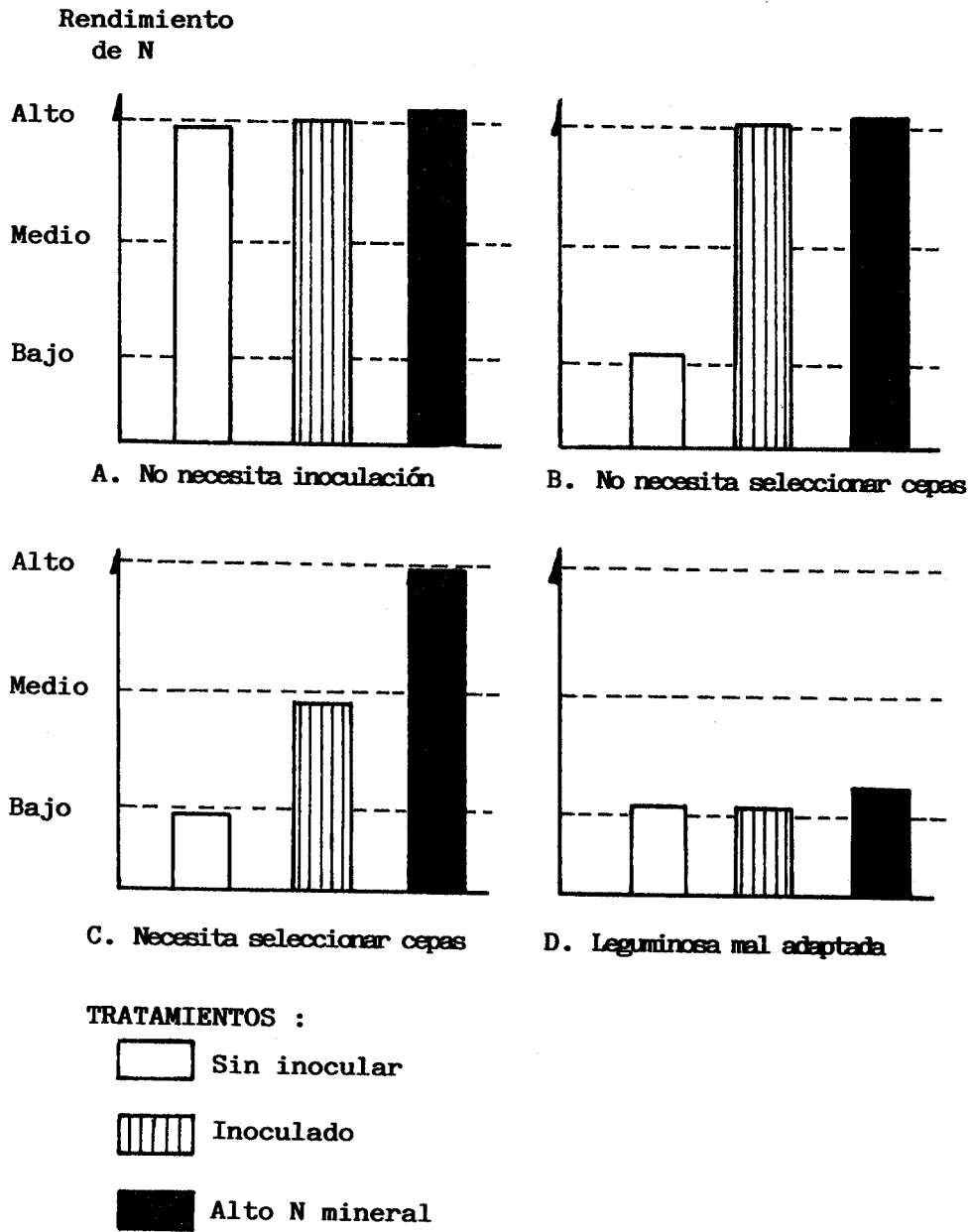


FIGURA 3- DETERMINACION DE LA NECESIDAD DE SELECCIONAR CEPAS PARA UNA LEGUMINOSA, BASADA EN LA RESPUESTA A 3 TRATAMIENTOS (SIN INOCULAR, INOCULADO Y ALTO N).

SISTEMAS DE INOCULACION

Existen varios sistemas para inocular las semillas, es decir, para ponerlas en contacto con rizobios seleccionados específicos para esa leguminosa en particular. Estos sistemas van desde poner en contacto y mezclar semillas y tierra de un lugar en donde exista esa leguminosa, hasta inyectar al suelo a presión las bacterias suspendidas en líquidos. Son tres los sistemas más utilizados:

- 1° Inoculación corriente. Mezcla de semillas con rizobios en suspensiones líquidas o en turbas en polvo.
- 2° Aplicar inoculante inyectándolo en el suelo a presión o en forma de píldoras al surco de siembra.
- 3° Peletizado de semillas. A la semilla cubierta con la bacteria específica, se le cubre con un adhesivo y un polvo de recubrimiento.

El primer sistema es fácil de realizar y es eficiente en la medida en que sigan las instrucciones del fabricante en cuanto a dosis y la labor de inoculación se haga tan cerca de la siembra como sea posible.

El aplicar directamente el inoculante al suelo, es un método recomendado cuando las semillas deben ser protegidas con pesticidas para evitar que sean dañadas o infectadas con patógenos del suelo. Algunos de estos protectores de semillas o de plántulas tienen, o pueden tener, efectos letales sobre los rizobios. Su mayor desventaja es que se debe aumentar la dosis de inoculante hasta llegar a usar 20 kg de turba por hectárea.

El peletizado de semillas es un sistema muy conveniente cuando se quieren hacer siembras aéreas, cuando se necesita mantener las semillas inoculadas sin sembrar por varios días, cuando se desea incorporar

algún fungicida para prevenir la caída de plántulas, daño a las semillas o existen problemas con la acidez del suelo.

Para que el pellets quede firme, se debe contar con un buen adhesivo a base de metil celulosa (Cellofas) o de goma arábica de pH neutro o corregido y de un polvo muy fino, debe pasar por malla 200 mesh, que puede ser dolomita, carbonato de calcio u otras mezclas que pueden incluir correctores de acidez, fosfato, incluso un fungicida. Entre otras ventajas un pellets bien hecho puede facilitar la correcta dosificación en la siembra.

CONCLUSIONES

1. La alfalfa bien nodulada puede obtener todo el N que necesita directamente desde el aire a través de la simbiosis con cepas seleccionadas.
2. Los suelos regados del Valle Central, en los cuales no se ha cultivado alfalfa, son pobres en rizobios del grupo de inoculación de la alfalfa, entre otras razones por la ausencia de hospederos alternativos.
3. La inoculación de las semillas, al momento de la siembra, corrige estas deficiencias y asegura la buena nutrición nitrogenada de la pradera.

BIBLIOGRAFIA

- ACUÑA P., HERNAN, HERRERA O., ALFONSO Y GAJARDO R., PEDRO. Efecto de la inoculación y pelletización de semillas en el establecimiento y nodulación de tréboles. *Agricultura Técnica* 47:1. 1987.
- ALEXANDER R., MARTIN. *Introduction to soil microbiology*. New York, N. Y., John Wiley & Sons. 1961.
- BLAIR, I. D. Studies on Rhizobium strain I. Rhizobium meliloti. *N. Z. J. Agric. Res.* 1967.
- JANSON, C. G. AND WHITE, J.G.H. Lucerne establishment studies on uncultivated country. *N.Z.J. Agric. Res.* 1971.
- KEYSER, H.H., MUNNS, D.N. Tolerance of rhizobia to acidity, aluminum and phosphate. *Soil Science Society of American Journal* 43. 1979.
- SYLVESTER-BRADLEY, ROSEMARY, KIPE-NOLT, JUDITH Y HARRIS, DAVID J. *Symbiosis leguminosa-rhizobio: evaluación, selección y manejo*. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. 1987.
- PATON, D.F. Problems in legume establishment with special reference to nodulation and nutrition. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 26. 1960.
- WILKINS, JEAN. The effects of high temperature on certain root-nodule bacteria. *Aust. J. Agric. Res.* 18. 1967.