

Examen de la actividad de los nódulos en raíces de leguminosas

Resumen

La asociación simbiótica entre bacterias y leguminosas es crucial para el aporte de nitrógeno (N) por fijación biológica, tanto al suelo como a las plantas, en los sistemas de cultivo ecológicos.

El trébol plurianual pueden llegar a aportar a los sistemas de cultivo más de 200 kg de N por ha/año a partir del segundo año posterior a la siembra.

Este documento técnico tiene como objetivo invitar a los agricultores a observar detenidamente las raíces de las leguminosas y a familiarizarse con el proceso de fijación de nitrógeno y su relevancia en la agricultura orgánica. En estas hojas se proporciona información relevante sobre la fijación del nitrógeno bio-lógico y se describe un método sencillo para examinar los nódulos de las raíces fijadoras de nitrógeno.



Fijación biológica de nitrógeno

Simbiosis entre la raíz de la planta y las bacterias

En la mayor parte de los suelos de Europa se produce una asociación (simbiosis) entre cepas locales de la bacteria Rhizobium y el trébol, la alfalfa, las alubias, los guisantes y la veza. La soja y los altramuces forman una simbiosis con la bacteria Bradyrhizobium que es difícil encontrar en suelos europeos. En el caso de las bacterias que no son autóctonas del suelo, se requiere realizar la inoculación (de las semillas) con las bacterias precisas antes de realizar la siembra.

Las raíces de la planta se comunican intrincadamente con las bacterias en su estadio de vida libre, produciéndose la nodulación de las raíces, en las cuales la bacteria se multiplica.

En los nódulos de las raíces de leguminosas la bacteria inicia la conversión biológica del nitrógeno inerte del aire (N₂) a amoníaco y aminoácidos dentro de los nódulos. Este proceso requiere de energía que obtiene de la planta. Así, aquellos factores que obstaculizan la fotosíntesis en las plantas, tales como el estrés hídrico y la carencia de otros nutrientes aparte del nitrógeno, reducirán la fijación biológica de nitrógeno. Por lo tanto, los factores que obstaculizan la fotosíntesis en plantas, como el estrés hídrico y la falta de otros nutrientes, también reducirá la fijación biológica de nitrógeno. La simbiosis resultante entre una planta en

buenas condiciones de crecimiento y la bacteria mejora el contenido de nitrógeno en todo el sistema planta-suelo.

El tamaño y la forma del nódulo pueden diferir entre especies de planta ⁽¹⁾. En soja (*Glycine max*) y habas (*Vicia faba*) los nódulos son generalmente grandes y redondos. Nódulos más pequeños y alargados se encuentran en especies de trébol (*Trifolium spp.*) y alfalfa (*Medicago*). Además, algunas especies tienen nódulos con formas más asimétricas.

Los nódulos que están activos son rojizos por dentro

Los nódulos que están activos y que fijan N, contienen una proteína pigmentada llamada leghemoglobina. Su presencia da como resultado una coloración rojiza en el interior de los nódulos, lo que indica que las bacterias están vivas y activas ⁽²⁾. Los nódulos que han muerto, o que están inactivos, o senescentes, suelen tener en el interior una coloración verde grisácea o marrón.

Fijación máxima de nitrógeno en la floración

Los nódulos aparecen de 4 a 6 semanas posterior a la siembra, y alcanzan una actividad máxima alrededor de la floración. En otoño, o al alcanzar la madurez de la planta (tras la floración), las raíces y los nódulos se vuelven senescentes y algunos empiezan a descomponerse. Una vez cosechado un cultivo perenne, por ejemplo el trébol, la fijación de nitrógeno puede continuar a lo largo de la estación. En las leguminosas perennes se inicia una nueva nodulación en primavera.



Nódulo activo de coloración rojiza en el lupino (*Lupinus*).
(Fotografía: R. Pommeresche, NORSØK).



Nódulos envejecidos, más senescentes e inactivos de color gris, en veza húngara (*Vicia pannonica*). (Fotografía: R. Pommeresche, NORSØK).



Nódulos marrones o "vacíos" en trébol rojo (*Trifolium pratense*).
(Fotografía: R. Pommeresche, NORSØK).

Amplio rango de fijación de N

La fijación de nitrógeno en una simbiosis leguminosa-rizobio varía ampliamente según el clima, el contenido de nitrógeno del suelo, el sistema de cultivo y el manejo. La cantidad de nitrógeno fijado en los tejidos de la parte aérea de leguminosas forrajeras no pastoreadas, en regiones templadas / boreales, oscila entre 60 y 370 kg de N por ha y año en trébol rojo (*Trifolium pratense* L.); de 80 a 540 kg de N por ha y año en trébol blanco (*T. repens* L.) y de 100 a 350 kg N por ha y año en alfalfa (*Medicago sativa* L.)⁽³⁾.

Los pastos cultivados con mezcla de leguminosas forrajeras pueden utilizar hasta el 80% del nitrógeno de la fija-

ción de N de las leguminosas. En trébol blanco en pastoreo se ha observado, en la parte aérea, una tasa de fijación de 55 a 295 kg N por ha y año (4).



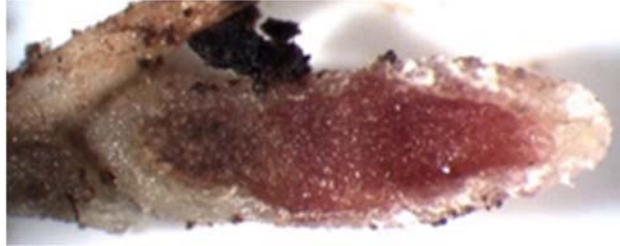
Nódulos en soja con bacterias activas (color rojo) (*Bradyrhizobium*).(Fotografía: Monika Messmer, FiBL).

En un cultivo de soja la fijación media de N es de alrededor de 175 kg de N por ha y año en regadío, determinada en los tejidos de la parte aérea (250 kg N incluyendo las raíces), y sobre 100 kg de N sin riego⁽⁵⁾. Los altramuces fijan alrededor de 165 kg de N en la parte aérea y las habas alrededor de 90 kg por ha⁽⁵⁾ (unos 130 kg por ha y año incluyendo raíces). Al ser la fijación de nitrógeno sensible al estrés hídrico, ésta será menor durante el verano en áreas secas no irrigadas.

La temperatura óptima para varias cepas de bacterias *Rhizobium* está entorno a los 20° C, si bien se ha registrado fijación de nitrógeno a temperaturas mucho más bajas para muchas leguminosas en diferentes latitudes. Se ha observado que la fijación de nitrógeno por ha y año en las zonas del norte (alrededor de 60 °N), y en las zonas con un clima más suave (alrededor de 40 ° N)⁽³⁾, puede ser casi igual. Esto puede deberse a que son diversos los factores ambientales involucrados en estos procesos.

Elevada proporción de nitrógeno en la biomasa de la raíz

Una elevada proporción del nitrógeno fijado se encuentra en las raíces y en los nódulos de las leguminosas. Experimentos realizados en plantas cultivadas en maceta indican que del 20 al 50% del N total en alfalfa (*Medicago* spp.), habas (*Vicia* spp.) y altramuces (*Lupinus* spp.), se encuentra presente en las raíces (incluyendo nódulos) en el momento de la floración. Sin embargo, la distribución del nitrógeno entre los brotes y las raíces puede variar mucho dentro del mismo género (*Medicago* spp., *Lupinus* spp.)⁽⁵⁾. En un cultivo de hierba y trébol rojo, se localizó el 60% del nitrógeno en los restos del trébol y el 25% en las raíces, tras el primer y segundo corte, mientras que en las gramíneas alrededor del 60% del N quedaba en el rastrojo y en las raíces después del segundo corte⁽⁶⁾.



Raíces de trébol rojo y trébol blanco, con el color y la forma de los nódulos fijadores de nitrógeno. Se observan los nódulos activos de coloración rosa en las raíces del trébol rojo (arriba), y una ampliación del interior de un nódulo de coloración rojiza correspondiente a trébol blanco. Ambas obtenidas de prados en Noruega (Fotografía: R. Pommeresche, NORSØK).

Diferencias en el número y distribución de los nódulos en las raíces de diferentes especies

La ubicación de los nódulos a lo largo de las raíces está ligada principalmente al género / especie de la planta y a la presencia de rizobios en el suelo. Cuando la cantidad de rizobios es pequeña, el bajo número de nódulos por planta se compensa con un aumento en el tamaño del nódulo. El contenido de nutrientes en el suelo, la estructura local del suelo y su aireación, influyen así mismo en la distribución y el tamaño de los nódulos. Las comparaciones entre nódulos se deben realizar para una misma especie y estadio de desarrollo de la planta.

Metodología de evaluación

La siguiente metodología describe un procedimiento simple para entender la simbiosis leguminosa-rizobio, así como para obtener una primera visión de la actividad de los simbioses en el campo.

Como proceder

1. Idealmente dos semanas antes de la floración (o en cualquier momento del ciclo de cultivo) seleccione de dos a cuatro plantas de leguminosas provenientes de una parte representativa del campo.
2. Excave y extraiga una muestra de suelo (de aproximadamente 25 x 25 cm y tan profundo como las raíces o lo que permita la pala) alrededor de la planta leguminosa elegida.
3. Levante el cúmulo de suelo cuidadosamente con la pala y colóquelo en una lámina de plástico.
4. Cuidadosamente, separe el suelo de las raíces manualmente e intente aflojar las raíces de las leguminosas con

un tenedor. Si el suelo es pesado se deberá utilizar agua para poder remover el suelo sin dañar los nódulos.

5. Busque los nódulos en las raíces y determine si éstos son activos o no cortando por la mitad tres nódulos en cada planta inmediatamente después de extraerla.
6. Repita el proceso con otra planta de la misma especie, eligiendo otra parte del campo, con mejor o peor crecimiento.

Preguntas útiles

- Aspecto de la planta: ¿tiene aspecto vigoroso con hojas de color verde oscuro o la planta se ve débil presentando un menor número de hojas con tonalidad pálida?
- Desarrollo de las raíces: ¿Se han desarrollado bien las raíces? ¿Son largas y con ramificación frecuente?
- Número, tamaño y distribución de los nódulos en la raíz: ¿Puedes encontrar nódulos en las raíces? ¿Hay pocos nódulos o hay muchos? ¿Son los nódulos de tamaño regular o muy grandes? ¿Los nódulos se han desarrollado en la raíz principal (raíz primaria) solamente o también en las raíces laterales? Idealmente, los nódulos deben encontrarse en diferentes raíces. ¿Los nódulos se encuentran sólo en el tercio superior del sistema radicular o también en el resto? Idealmente, los nódulos deben aparecer en toda la profundidad del sistema radicular.
- Color de los nódulos de la raíz: ¿De qué color son los nódulos que han sido cortados por la mitad? Rojo / morado / rosado = bacterias activas; color verde grisáceo o marrón = bacterias viejas o inactivas; blanco = nódulos jóvenes o nódulos cambiando a activos o inactivos.



Búsqueda de nódulos en raíces de trébol, Noruega. Se encuentran nódulos y bacterias fijadoras de nitrógeno activas en algunas de las raíces del trébol rojo (Fotografía: S. Hansen, NORSØK).

Materiales utilizados

- Una pala (para extraer las muestras de suelo que contienen las raíces de plantas)
- Láminas de plástico (para colocar el suelo y las plantas)
- Un bolígrafo, papel, un tenedor, una regla y una cámara
- Un cubo de agua (para eliminar el suelo de las raíces de las plantas)

Interpretación de las observaciones

Observaciones	Posibles conclusiones y recomendaciones
Color y número de nódulos	<ul style="list-style-type: none">Independientemente de la especie leguminosa, si se encuentran aproximadamente 15 nódulos en las raíces de una planta y la mayoría de estos son rojizos por dentro, puede asumirse que las bacterias fijadoras de nitrógeno están funcionando bien.Generalmente, las bacterias Rhizobia y Bradyrhizobia aparecen en el suelo si el género de planta es natural del área o bien ha sido cultivado previamente en ese campo de forma satisfactoria. Si las bacterias adecuadas no están presentes en el suelo, la mayoría de las leguminosas mostrarán un crecimiento por debajo del óptimo. En tales casos, la inoculación con las bacterias es indispensable para un óptimo desarrollo de la planta. La falta de bacterias no se puede compensar con fertilización nitrogenada. La fertilización con N afecta negativamente a la nodulación.Con una inoculación satisfactoria y la repetición del cultivo de leguminosa, la cantidad de nódulos puede exceder de 100 por planta. Sin embargo, el número de nódulos no es equivalente a una alta tasa de fijación sino una condición previa para una simbiosis eficiente.
Tamaño de los nódulos	<ul style="list-style-type: none">Nódulos uniformemente distribuidos y de tamaño regular a menudo indican mayores tasas de fijación de nitrógeno que la presencia de algunos pocos nódulos de gran tamaño.
Distribución de los nódulos en las raíces	<ul style="list-style-type: none">La presencia de nódulos únicamente en la parte superior de la zona radicular puede ser una indicación de falta de aire en la zona radicular más profunda. En tal caso, una mejor estructura del suelo puede favorecer la aireación de la zona inferior de raíces y también el acceso al nitrógeno, y como resultado estimular el desarrollo de nódulos en las capas más profundas del suelo.
Presencia de nódulos sólo en la raíz principal	<ul style="list-style-type: none">La presencia de nódulos solamente en la raíz principal puede indicar que las bacterias intentan compensar una baja fijación aumentando su número dentro de los nódulos.

Referencias bibliográficas

- Somasegaran, P. & H.J. Hoben. 1994. Handbook of Rhizobia. Methods in Legume-Rhizobium Technology. Springer Verlag, New York, Inc.
- Virtanen, A. I., Jorma, J., Linkola, H. & Linnasalmi, A. 1947. On the relation between nitrogen fixation and leghaemoglobin content of leguminous root nodules. Acta Chem. Scan. 190-111. Pdf.
- Carlsson, G. & Huss-Danell, K. 2003. Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. Plant and Soil 253, 353-372.
- Ledgard, S.F. & Steele, K.W. 1992. Biological nitrogen fixation in mixed legume/grass pasture. Plant and Soil 141,137-153.
- Unkovich, M.J. & Pate, J.S., 2000. An appraisal of recent measurements of symbiotic N₂ fixation by annual legumes. Field Crops Research 65, 211-228.
- Huss-Danell, K., Chaia, E. & Carlsson, G., 2007. N₂ fixation and nitrogen allocation to above and below ground plant parts in red clover grasslands. Plant Soil 299, 215-226.

Impresión

Editores

Research Institute of Organic Agriculture FiBL
Ackerstrasse 113, Postfach 219, CH-5070 Frick, Switzerland
Phone +41 62 865 72 72, info.suisse@fibl.org, www.fibl.org

Norwegian Centre for Organic Agriculture (NORSØK)
Gunnars veg 6 , NO-6630 Tingvoll, Norway
Phone +47 930 09 884, post@norsok.no, www.norsok.no

Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA)
c/ Héroes 2 de Mayo, 27, 39600 Muriedas, Cantabria
Phone +34 942254045, cifa@cifacantabria.org,
www.cifacantabria.org

Autores

Reidun Pommeresche and Sissel Hansen (ambos NORSØK).

Revisión

Andreas Fliessbach, Christine Arncken-Karutz, Monika Messmer, Kathrin Huber, Gilles Weidmann (ambos FiBL)

Edición y traducción

Traducción del inglés por el Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA) del Gobierno de Cantabria

Foto de portada

Raíces de soja con bacterias fijadoras de nitrógeno en nódulos.
Fotografía: Monika Messmer (FiBL)

Descarga

Esta nota técnica está disponible en www.fertilcrop.net
© Research Institute of Organic Agriculture, Switzerland, 2017

Acerca de FertilCrop

Medidas de manejo para la mejora de la fertilidad en sistemas de cultivo ecológico -FertilCrop es un proyecto financiado por los organismos de financiación en CORE Organic Plus, socios del proyecto FP7 ERA-Net CORE Organic Plus. El objetivo general de FertilCrop es desarrollar técnicas de manejo eficientes y sostenibles destinadas a aumentar la productividad de los cultivos en los sistemas de producción ecológica. Más información sobre FertilCrop está disponible en www.fertilcrop.net.

Renuncia

Los contenidos de este documento técnico son responsabilidad exclusiva de los autores, y no representan necesariamente la visión de los financiadores del proyecto. Si bien se han realizado todos los esfuerzos para garantizar la exactitud de la información contenida en estas hojas técnicas, se proporciona sin garantía y no aceptamos ninguna responsabilidad por el uso que pueda hacerse de la información.