

Aumento de la capacidad de fijación biológica del nitrógeno

por S.K.A. Danso y D.L. Eskew*

En los últimos decenios se han registrado aumentos espectaculares de la producción agrícola, pero, dado que la población mundial ha crecido al mismo ritmo, en los próximos decenios se requerirán aumentos aún mayores de esa producción. Más de la mitad del incremento de la producción agrícola alcanzado puede atribuirse al creciente empleo de fertilizantes inorgánicos.

De los elementos nutrientes proporcionados por los fertilizantes inorgánicos, el más importante es el nitrógeno. En algunos casos, se debe a este elemento el 75% de los aumentos de rendimiento logrados. A fin de poder satisfacer las necesidades futuras de alimentos, es esencial que el empleo de fertilizantes nitrogenados inorgánicos continúe aumentando. Ahora bien: estos fertilizantes son costosos y pueden convertirse en contaminantes ambientales. El proceso industrial por el que se fabrican los fertilizantes nitrogenados inorgánicos requiere elevadas temperaturas y presiones, que se obtienen quemando gas natural u otros combustibles fósiles. Por lo tanto, la fabricación de fertilizantes nitrogenados inorgánicos es el insumo energético más grande en todos los sistemas de producción agrícola, desde el menos hasta el más mecanizado: actualmente, el 2% del consumo mundial total de combustibles fósiles se emplea para este fin. Los países en desarrollo que no están dotados de recursos de combustibles fósiles se ven obligados a importar el fertilizante nitrogenado manufacturado o los propios combustibles fósiles, lo que resulta en una importante disminución de la ya limitada disponibilidad de divisas.

Generalmente la planta solo utiliza entre el 30 y el 50% del fertilizante nitrogenado inorgánico aplicado. El resto se pierde por volatilización, desnitrificación o percolación de nitratos que pasan al agua subterránea. En los países industrializados, en los que suelen emplearse grandes cantidades de fertilizantes inorgánicos, algunas veces la contaminación del agua potable por los nitratos ha puesto seriamente en peligro la salud de los habitantes. Por estos motivos, es preciso que los fertilizantes nitrogenados inorgánicos se empleen lo más eficazmente posible y solo cuando sean necesarios. Varios Programas Coordinados de Investigación (PCI) emprendidos por la Sección de Fertilidad de Suelos, Riegos y Producción Agrícola de la División Mixta FAO/OIEA se han concentrado en encontrar la forma más eficaz de aplicar los fertilizantes nitrogenados a diversos cultivos utilizando nitrógeno ^{15}N como trazador. Los resultados de estos estudios han sido adoptados en muchos países

del mundo, lo que ha permitido economizar anualmente cantidades de fertilizantes nitrogenados valoradas en muchos millones de dólares. Más recientemente, los PCI realizados por la Sección se han concentrado en mejorar el proceso natural de fijación biológica del nitrógeno molecular.

Antes de que aparecieran los fertilizantes químicos manufacturados, la producción agrícola dependía de la fijación biológica del nitrógeno. Desde la aparición del proceso industrial Haber-Bosch, se recurre en creciente proporción a los fertilizantes manufacturados y, según ciertas estimaciones, ya se utiliza casi tanto nitrógeno fijado industrialmente como nitrógeno de fijación biológica. La mayoría de los cultivos de buen rendimiento contienen aproximadamente 200 kg N/ha; pero aunque el 78% de la atmósfera terrestre está compuesta de gas nitrogenado, habiendo, por lo tanto, centenares de toneladas de nitrógeno por encima de cada hectárea de superficie terrestre, el nitrógeno es el elemento nutriente que más limita la producción agrícola. Esta paradoja resulta del hecho de que las plantas no pueden utilizar directamente el nitrógeno molecular (N_2) gaseoso existente en la atmósfera. Para que las plantas puedan asimilar el nitrógeno molecular, debe romperse primero el enlace sumamente estable existente entre sus dos átomos de nitrógeno e incorporarse el nitrógeno formando amoniaco o nitratos. Como ya se ha mencionado, esto puede lograrse mediante un proceso industrial o mediante la fijación biológica del nitrógeno molecular. Aunque ninguna planta es capaz de fijar biológicamente el nitrógeno molecular por sí misma, la naturaleza ha dotado a varios microorganismos primitivos de la capacidad de fijar biológicamente el nitrógeno molecular. Al asociarse simbióticamente con estos microorganismos, algunas plantas son capaces de utilizar indirectamente el nitrógeno molecular atmosférico para ayudar a su crecimiento. Por desgracia para la humanidad, en el caso de los cultivos cereales tales como el arroz, el trigo y el maíz —que constituyen la base principal de nuestra alimentación— tales asociaciones no se forman, o se desarrollan muy poco. Por lo tanto, para continuar alimentando a este mundo hambriento no cabe contar con que la fijación biológica del nitrógeno molecular reemplace completamente a la fijación industrial que se opera en las fábricas de fertilizantes nitrogenados. Deben encontrarse las mejores combinaciones fito-microbianas y prácticas agrícolas que permitan el uso más eficaz de la fijación biológica del nitrógeno molecular.

La asociación simbiótica más importante y conocida es la asociación de las bacterias del género *Rhizobia* con leguminosas (Véase el Recuadro 1). Los guisantes, la soja y los cacahuetes son leguminosas de semillas

* Funcionarios de la Sección de Fertilidad de Suelos, Riegos y Producción Agrícola de la División Mixta FAO/OIEA.

Simbiosis de leguminosas con las bacterias del género *Rhizobia*

Las bacterias del género *Rhizobia* infestan las raíces de las leguminosas y producen tumefacciones parecidas a los tumores que se denominan nódulos. El centro de cada nódulo maduro está lleno de miles de millones de bacterias que fijan el nitrógeno molecular. La planta leguminosa huésped proporciona la energía necesaria para que se produzca la fijación del nitrógeno molecular, capturando energía de la luz solar por fotosíntesis. Por lo tanto, la eficacia global de esta simbiosis compleja depende de las eficacias de la leguminosa y de las bacterias. Por consiguiente, la genética de la leguminosa huésped y la de las bacterias son sumamente importantes, al igual que la modalidad de su interacción. Asimismo, todo factor nutritivo o ambiental que afecte a una de las partes afecta a la eficacia global de simbiosis. Dada la complejidad de la simbiosis, es absolutamente esencial que las investigaciones se efectúen en condiciones naturales en que puedan tenerse en cuenta todos los factores.

grandes (conocidas también como legumbres) que se cultivan para aprovechar sus semillas. En América Latina y Africa, el frijón común y el guisante forrajero son importantes fuentes de proteína en la dieta humana. Desde el punto de vista de las cantidades consumidas, las legumbres ocupan el segundo lugar, después de los

cereales. La alfalfa y el trébol son ejemplos de importantes leguminosas utilizadas en los pastizales para la producción de forrajes, y en silvicultura se emplean también algunos árboles leguminosos.

Les leguminosas se vienen empleando en la agricultura desde hace centenares de años, pero solo a comienzos del presente siglo se descubrió que, a través de su asociación con las *Rhizobia*, podían utilizar indirectamente el nitrógeno atmosférico. Desde entonces, se han realizado considerables adelantos en cuanto a la comprensión de los factores genéticos de las plantas y de las bacterias que controlan la simbiosis, la bioquímica de las enzimas involucradas, y las condiciones nutricionales y ambientales que influyen en el funcionamiento del sistema. Sin embargo, por razones importantes siguió siendo difícil medir las cantidades de nitrógeno que realmente se fijan en condiciones reales. El primero era que la simbiosis ocurre en nódulos de las raíces de las plantas, es decir, debajo de la superficie del suelo, y que para efectuar las mediciones era necesario, por lo tanto, perturbar el sistema desenterrando las plantas. El segundo problema era que las leguminosas, al igual que cualquier otra planta, utilizan el nitrógeno del suelo y el del fertilizante, así como el derivado de su asociación simbiótica. Una vez que las leguminosas

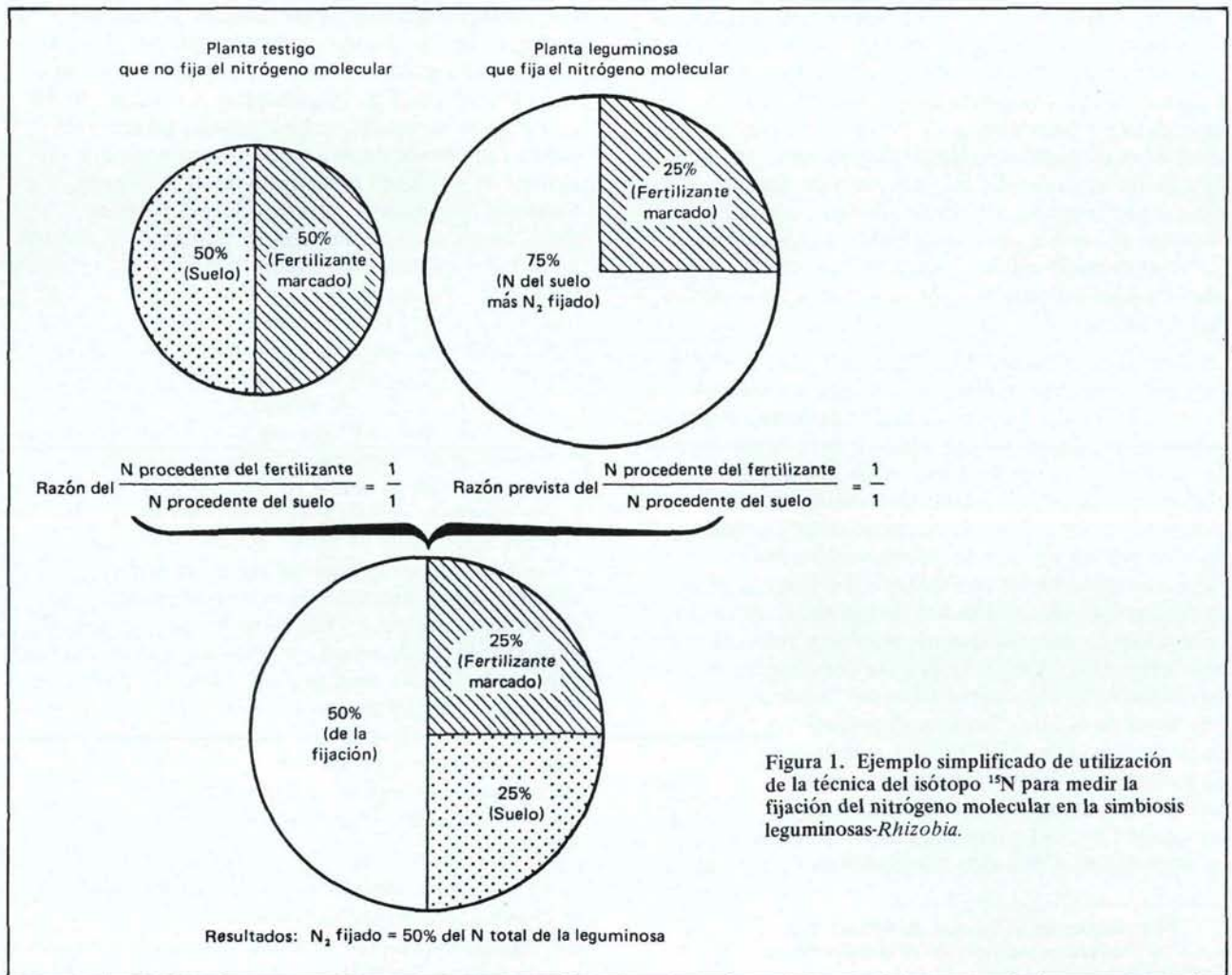


Figura 1. Ejemplo simplificado de utilización de la técnica del isótopo ¹⁵N para medir la fijación del nitrógeno molecular en la simbiosis leguminosas-*Rhizobia*.

absorben el nitrógeno del suelo o del fertilizante, este nitrógeno no puede distinguirse del nitrógeno derivado de la fijación simbiótica. Por lo tanto, es difícil saber si un tratamiento que eleva el contenido de nitrógeno de las plantas ha alcanzado sus resultados por haber aumentado la fijación del nitrógeno o por haber aumentado la cantidad de nitrógeno del suelo o del fertilizante absorbida por la planta.

La Sección de Fertilidad de Suelos, Riegos y Producción Agrícola, en colaboración con la Sección de Edafología del Laboratorio de Biotecnología Agrícola FAO/OIEA en Seibersdorf, ha aportado importantes contribuciones al desarrollo de una técnica a escala natural, basada en la utilización del ^{15}N , que permite efectuar estimaciones más sencillas y precisas respecto de la fijación biológica del nitrógeno molecular que las que se podían hacer con los métodos que se utilizaban antes [1]. Esta técnica consiste en aplicar un fertilizante marcado con ^{15}N a una planta "testigo" que no fija nitrógeno, a fin de determinar la utilización de nitrógeno procedente del suelo y del fertilizante, y plantar una leguminosa que fija nitrógeno, aplicándole el mismo fertilizante ^{15}N para determinar la fijación. En la figura 1 se proporciona un ejemplo simplificado. En la parte superior izquierda se indica el caso hipotético en que una planta testigo que no fija nitrógeno absorbe la mitad de su nitrógeno del suelo y la otra mitad del fertilizante marcado con ^{15}N . En este caso es necesario suponer que la leguminosa utilizará el nitrógeno del suelo y el del fertilizante marcado con ^{15}N en esta misma relación de 1:1. En el caso extremo, en el que no se fija nitrógeno, el enriquecimiento en ^{15}N de la planta testigo y de la leguminosa sería el mismo. En la parte superior derecha de la figura 1 se ilustra el caso de la leguminosa que fija nitrógeno molecular y que absorbe parte de su nitrógeno del nitrógeno molecular atmosférico. Si se combina la información suministrada en los dos diagramas de la parte superior, es posible determinar la contribución relativa del nitrógeno del suelo, del nitrógeno del fertilizante y del nitrógeno atmosférico al nitrógeno total absorbido por la leguminosa, como se muestra en la parte inferior del diagrama. La magnitud de la disminución de la proporción del nitrógeno total que la leguminosa absorbe del fertilizante marcado con ^{15}N es, por lo tanto, directamente proporcional a la cantidad de nitrógeno obtenida de la atmósfera; en este caso, el 50%. Actualmente, este método ya es ampliamente aceptado en todo el mundo como el más directo, práctico y útil para cuantificar la fijación de nitrógeno en condiciones reales.

La técnica en que se recurre al isótopo ^{15}N para medir la fijación del nitrógeno ha sido utilizada, y se sigue utilizando, en varios de los PCI de la Sección de Fertilidad de Suelos, Riegos y Producción Agrícola. Dicha técnica se ha utilizado en un programa de producción de legumbres para medir los efectos de la fertilización nitrogenada y fosfatada en la fijación del nitrógeno y para comparar, en cuanto a su capacidad de fijación de nitrógeno, distintas variedades de legumbres. Actualmente se está utilizando para medir el nitrógeno que aportan varias legumbres en sistemas de policultivo, en los que esas legumbres se plantan entremezcladas con maíz, sorgo u otros cultivos, en una misma cam-

Cuadro 1. Variación en la capacidad de fijación del nitrógeno entre variedades de *Phaseolus* (fríjol común) en el Brasil y de soja en Grecia.

Variedad de <i>Phaseolus</i>	kg N/ha fijado
Goyana precoce	24,6
Moruna	37,1
Carioca precoce	46,2
Costa Rica	57,9
Carioca	65,0
Variedad de soja	kg N/ha fijado
Chippewa	54,0
Williams	215,6
Amsoy-71	247,4

paña o bien se alternan con estos cultivos en compañías sucesivas. Esta práctica se basa en el concepto de que el nitrógeno fijado por la leguminosa puede ser utilizado por una segunda planta. Mediante el empleo del ^{15}N se puede cuantificar el nitrógeno asimilable y modificar las prácticas de cultivo a fin de maximizar las ventajas. La técnica del isótopo ^{15}N se está empleando también en un programa de mejoramiento de la ordenación de pastos apoyado por el Gobierno de Italia. Generalmente, las leguminosas se mezclan con las gramíneas de los pastos para aumentar la cantidad de proteínas del forraje. Con la técnica del ^{15}N se pueden determinar prácticas de ordenación que aumenten la fijación de nitrógeno. Más recientemente, se ha iniciado un programa sobre la utilización de la simbiosis *Azolla-Anabaena* para suministrar nitrógeno a los cultivos de arroz de regadío.

Del valor que tiene la técnica del isótopo ^{15}N para medir la fijación del nitrógeno da idea el hecho de que muchos de los resultados ya obtenidos en el marco del programa de producción de legumbres no hubiesen podido lograrse con otros métodos. En 1979 se inició un Programa Coordinado de Investigación, con el apoyo de la Autoridad Sueca para el Desarrollo Internacional (SIDA), sobre la fijación del nitrógeno molecular en las legumbres. Los científicos que participaron en este programa provenían de 19 Estados Miembros. El resultado más importante fue el descubrimiento de que se dan grandes diferencias, en cuanto a capacidad de fijación de nitrógeno, entre las distintas especies de leguminosas y que también hay diferencias considerables entre las variedades de una misma especie. Además, de los experimentos realizados en el marco del programa en muchos países se desprende que esas diferencias persisten en una amplia gama de condiciones ambientales. Por ejemplo, se determinó claramente que el fríjol común (*Phaseolus vulgaris*), que se cultiva mucho en América Latina, es un débil fijador de nitrógeno, con proporciones, según informes, de 30 a 60 kg N/ha en México, Kenya y el Brasil. Al otro extremo de la escala, la haba menor o equina (*Vicia faba*) fue claramente identificada como un extraordinario fijador de nitrógeno con proporciones de 150 a 300 kg N/ha en Egipto y Austria. Aunque anteriormente otras técnicas habían conducido a resultados similares, se disponía únicamente de una cantidad de información

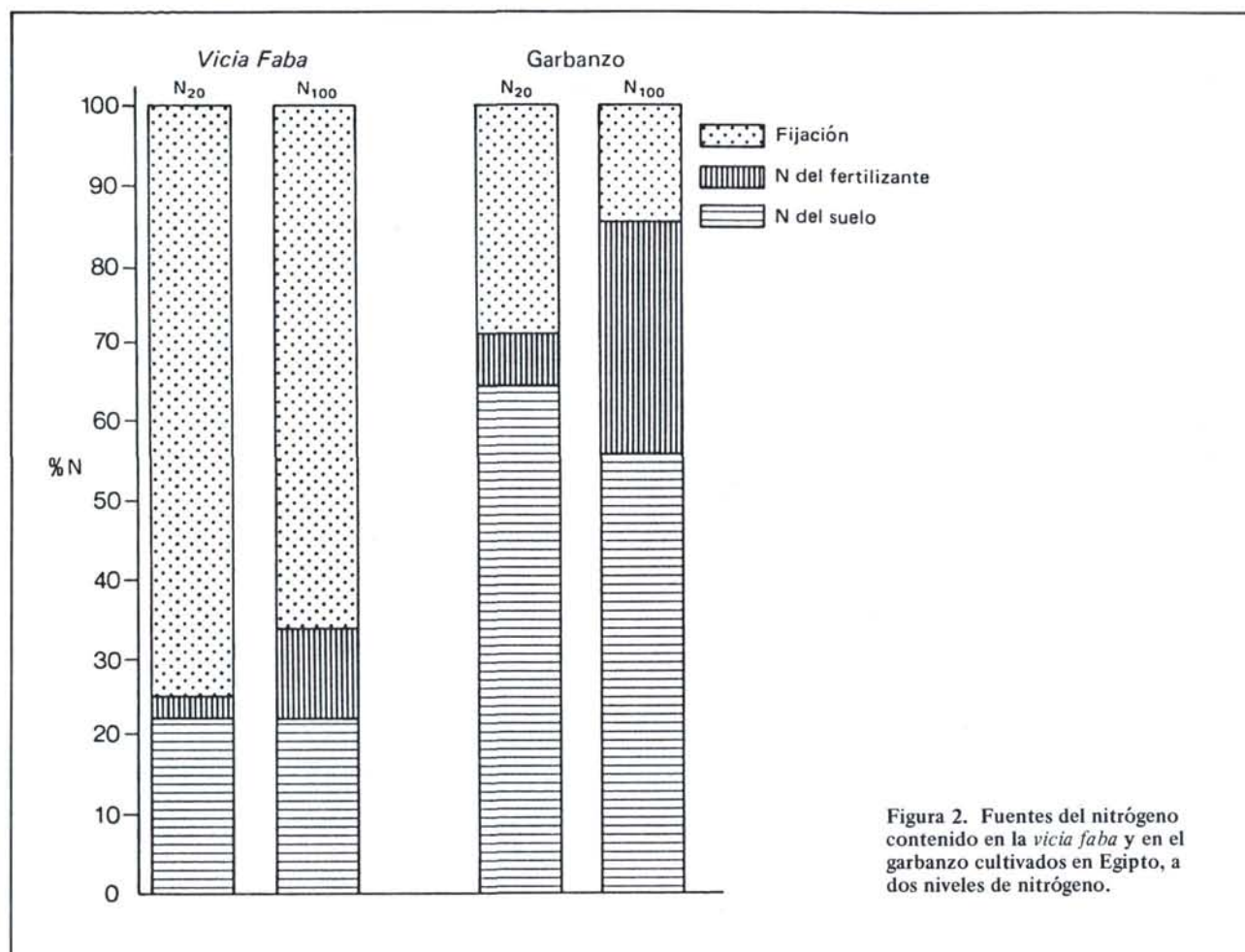


Figura 2. Fuentes del nitrógeno contenido en la *vicia faba* y en el garbanzo cultivados en Egipto, a dos niveles de nitrógeno.

limitada y relativa solo a unos pocos lugares. Gracias a los datos obtenidos de este programa, ahora es posible concentrar los esfuerzos en el aumento de la fijación del nitrógeno en los cultivos en los que más se necesita. Actualmente se está iniciando un programa para aumentar la capacidad del *Phaseolus* de fijar nitrógeno.

La técnica del isótopo ¹⁵N contribuyó a demostrar que también hay variabilidad entre las variedades de leguminosas, así como entre diferentes leguminosas, en lo que respecta a su capacidad para fijar nitrógeno. En el Cuadro 1 figuran ejemplos de comparaciones entre variedades de *Phaseolus* en el Brasil [2] y de soja en Grecia. No obstante el número limitado de variedades utilizadas en estos experimentos, se reveló que en el caso del *Phaseolus* una variedad fija 2,6 veces más que otra y en el caso de la soja, 4,6 veces.

La cantidad de nitrógeno realmente fijada por una leguminosa no depende solamente de la genética de las bacterias o de la planta huésped, sino también del medio ambiente y las prácticas agrícolas. Entre las prácticas agrícolas comunes, la fertilización con P y N influye en forma importante sobre la fijación del nitrógeno. En Kenya, la fertilización de *Phaseolus* con 150 kg/ha de P resultó en un aumento del 62% en el rendimiento de este cultivo y de un promedio de 8 kg/ha a 60 kg/ha en la fijación de nitrógeno. En un

experimento con judías de mungo realizado en el Pakistán, al aumentarse la cantidad de fertilizante fosfatado de 25 a 35 kg P/ha se obtuvo un aumento de la fijación de nitrógeno de 20 a 48 kg/ha. En este caso, la capacidad de la técnica del isótopo ¹⁵N para diferenciar el nitrógeno procedente del suelo y el nitrógeno fijado procedente de la atmósfera fue particularmente importante, dado que el contenido total de nitrógeno solo aumentó levemente. De esta manera, la aplicación de una mayor cantidad de fertilizante fosfatado se tradujo en un aumento de la fijación y, por lo tanto, las judías de mungo consumieron menos nitrógeno del suelo.

Es bien sabido que cuando se cultivan leguminosas en suelos en que abunda el nitrógeno asimilable, la tasa de fijación del nitrógeno se reduce. Sin embargo, cuando se cultivan leguminosas en sistemas de cultivos mixtos o de policultivos, aún suele ser necesario añadir fertilizantes nitrogenados al componente no leguminoso de los sistemas. Por lo tanto, se han de identificar las especies o variedades de leguminosas que continúan fijando nitrógeno atmosférico aunque se añada nitrógeno con el fertilizante. Al comparar los efectos de la aplicación de 20 y 100 kg N/ha en la haba menor (*Vicia faba*) y el garbanzo de Egipto, se halló que la capacidad de fijación de nitrógeno del garbanzo era mucho menor que la de la *Vicia faba* (fig.2). Esto parece indicar que la *Vicia faba* puede ser mucho más adecuada que el garbanzo para los sistemas de policultivos.

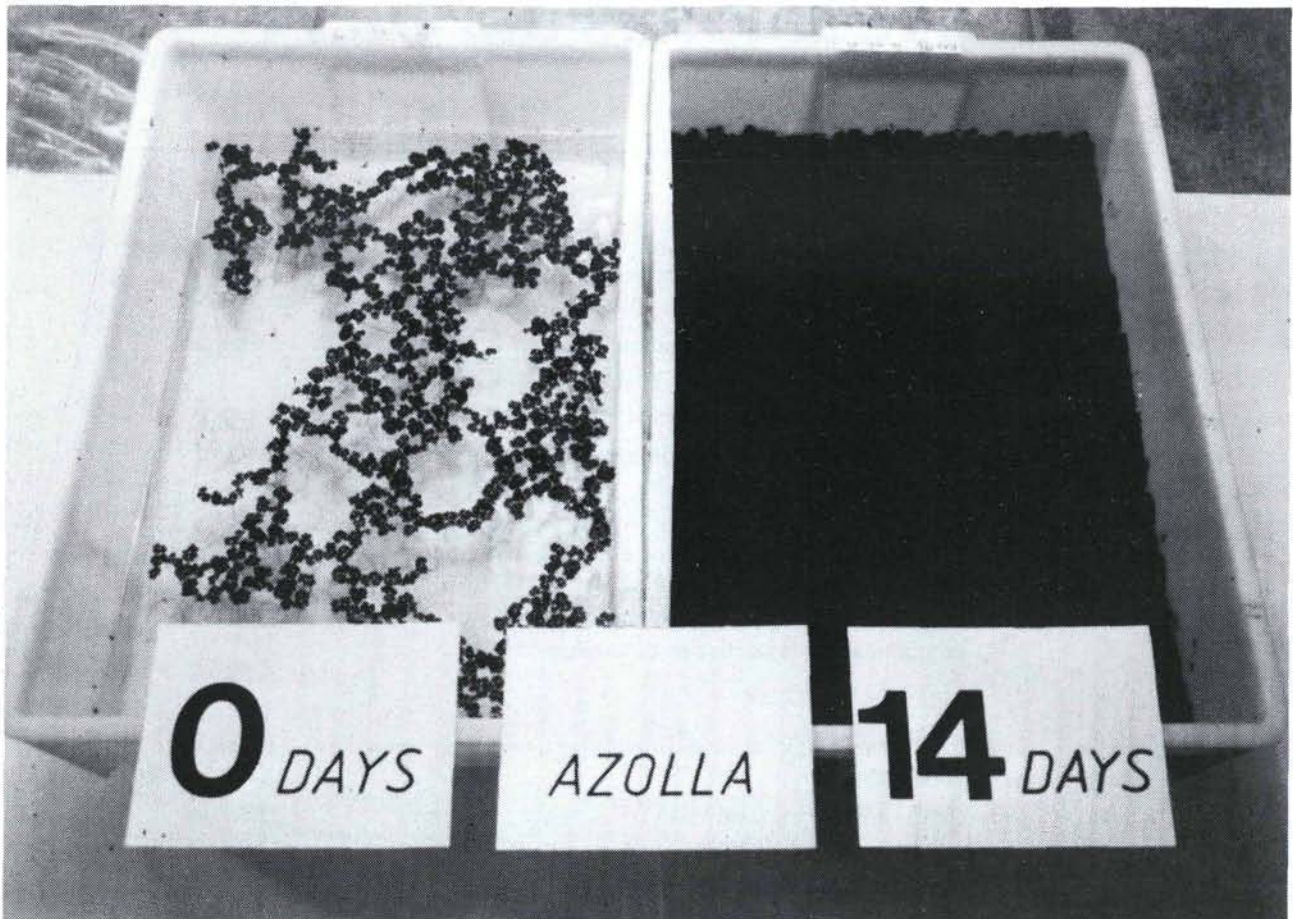


Figura 3. Las plantas de estas dos bandejas dan idea de la rapidez con que pueden crecer las plantas *Azolla*: las de la derecha fueron plantadas dos semanas antes.

La técnica del isótopo ^{15}N ha demostrado ser muy valiosa en estudios de la simbiosis de leguminosas con bacteria del género *Rhizobia*, pues permite efectuar muchos más experimentos que antes y proporciona en abundancia nueva información práctica. Actualmente, la Sección de Edafología está estudiando la forma de aplicar también esta técnica a otras simbiosis que afectan a la capacidad de fijación de nitrógeno.

La simbiosis del helecho acuático flotante del género *Azolla* (del que existen seis especies conocidas) con las algas verdeazuladas del género *Anabaena azollae* que fijan nitrógeno (conocidas también como cianobacterias) puede proporcionar grandes cantidades de nitrógeno para el cultivo del arroz de regadío [3]. Las algas verdeazuladas que fijan nitrógeno viven en una cavidad de la hoja del helecho y proporcionan nitrógeno a la planta huésped. Esta simbiosis tiene una capacidad de crecimiento muy rápido en medios que no contienen nitrógeno químicamente combinado (Fig.3). En condiciones adecuadas, pueden fijarse en dos semanas 30 kg de N/ha. Aunque solo recientemente se ha puesto atención, a nivel internacional, al potencial de la simbiosis con *Azolla*, esta asociación se viene utilizando desde hace varios siglos en el sur de China y Viet Nam como fuente de nitrógeno para el arroz de regadío.

Dado que el nitrógeno fijado es asimilado en la biomasa del helecho, la planta de arroz no puede asimilar directamente ese nitrógeno. Primero tienen que incorporarse al suelo las plantas *Azolla* y hay que dejar que se descompongan para que la planta del arroz pueda asimilar el nitrógeno y aprovecharlo para su crecimiento. En un nuevo Programa Coordinado de Investigación se emplearán las técnicas isotópicas ^{15}N para cuantificar la cantidad de nitrógeno fijado por la simbiosis de las *Azolla* en condiciones naturales realistas y tratar de desarrollar prácticas óptimas para aumentar la eficacia con que la planta del arroz asimila el nitrógeno fijado por las plantas del género *Azolla*.

Referencias

- [1] M. Fried y H. Broeshart. *An independent measure of the amount of nitrogen fixed by a legume crop*. Plant and Soil 43, págs. 707-711 (1975).
- [2] A.P. Ruschel, P.B. Vose, E. Matsui, R.L. Victoria y S.M.T. Saito. *Field evaluation of N_2 fixation and N-utilization by Phaseolus bean varieties determined of ^{15}N isotope dilution*. Plant and Soil 65, 397-407 (1982).
- [3] I. Watanabe, B. Kezhi, N.S. Berja, C.R. Espinas, O. Ito y B.P.R. Subudhi. *The Azolla-Anabaena complex and its use in rice culture*. IIRRI Research Paper Series 69 (1981).