



Más microorganismos fijadores de nitrógeno, menos fertilizantes químicos

EL PROBLEMA DE LOS NITRATOS EN LA AGRICULTURA

El nitrógeno es esencial para el crecimiento de las plantas, pero su disponibilidad en el suelo es limitada. Las plantas no pueden absorber nitrógeno atmosférico (N_2), por lo que, en la agricultura moderna, la deficiencia de nitrógeno en el suelo se corrige mediante la aplicación de fertilizantes químicos. Sin embargo, estos fertilizantes pueden causar problemas ambientales significativos. La alta solubilidad de los nitratos en agua puede llevar a la lixiviación, que no solo disminuye la fertilidad del suelo y afecta al rendimiento de los cultivos, sino que también contamina las aguas superficiales y provoca problemas como la eutrofización, un fenómeno que favorece el crecimiento excesivo de algas y perjudica la vida acuática. Además, la contaminación por nitratos en el agua potable puede suponer un problema de salud si se alcanzan ciertos umbrales. Los fertilizantes a base de amoníaco también contribuyen al cambio climático, ya que pueden liberar dióxido de nitrógeno, un gas de efecto invernadero.

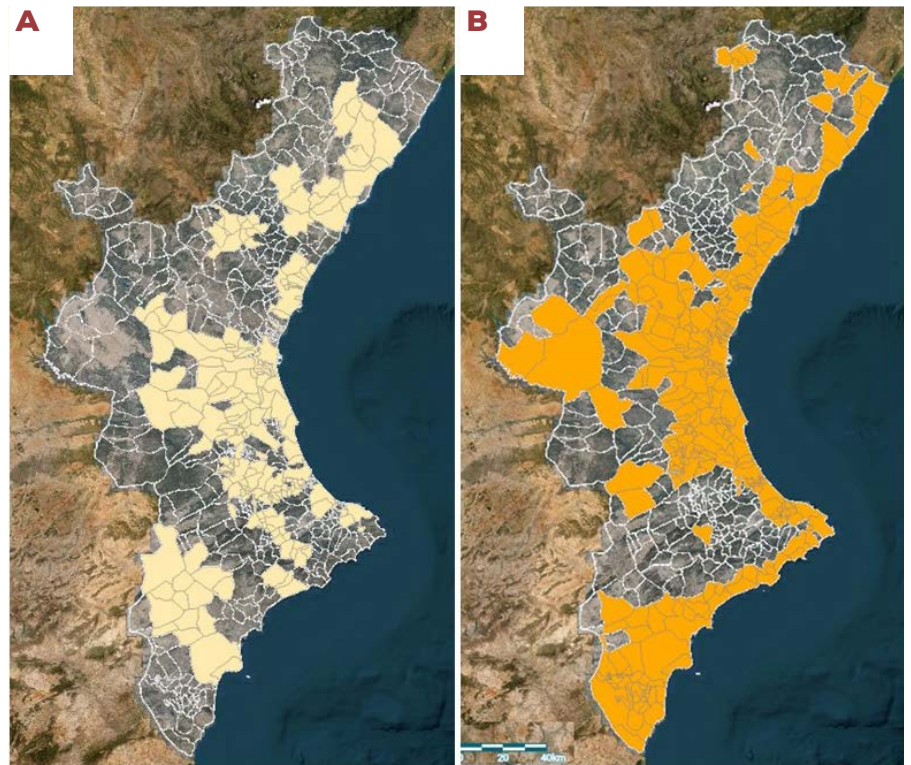
A pesar de estos problemas, la agricultura sigue dependiendo en gran medida de los fertilizantes químicos. La demanda de nitrógeno ha aumentado un 1,4 por ciento anual en los últimos diez años según el informe de la FAO «**Nuevos datos para medir los presupuestos de nutrientes de las tierras de cultivo' (FAOSTAT, 2020)**». Por lo tanto, es urgente buscar alternativas sostenibles para suministrar nitrógeno a las plantas y reducir la dependencia de los fertilizantes químicos.

En la Comunitat Valenciana, la contaminación por nitratos constituye un serio problema; tanto que hay unos doscientos municipios que han sido designados zonas vulnerables en aguas contaminadas por nitratos a nivel superficial (**Figura 1 A**) y 180 con contaminación de las aguas subterráneas

por nitratos; en su mayor parte, de origen agrario (**Figura 1 B**). Para paliar esta situación, la legislación establece límites estrictos en la cantidad de nitrógeno que se puede aplicar al suelo, tratando de evitar la existencia de excedentes de nitratos que puedan ser arrastrados hasta las aguas subterráneas. Sin embargo, en algunos casos, este límite puede no ser suficiente para satisfacer las necesidades nutricionales de los cultivos. Por ello, insistimos, es clave la búsqueda de soluciones que permitan aportar el nitrógeno necesario para la correcta nutrición de los cultivos sin tener que incrementar la cantidad de nitratos de origen químico.

FIGURA 1. MUNICIPIOS VULNERABLES DE AGUAS SUPERFICIALES (A) Y SUBTERRÁNEAS (B) POR CONTAMINACIÓN POR NITRATOS PROCEDENTES EN SU MAYORÍA DE LA AGRICULTURA.

Fuente: Municipios, zonas vulnerables a contaminación de aguas por nitratos (2024, CC BY 4.0 Generalitat).



Las bacterias endofíticas son especialmente prometedoras porque pueden colonizar las plantas sin causarles daño, proporcionándoles nitrógeno directamente y encontrando menos competencia que la que encontrarían en el suelo.

BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO

Una alternativa prometedora consiste en la fijación biológica de nitrógeno (BNF), llevada a cabo por microorganismos diazotófos que convierten el nitrógeno atmosférico, al cual no pueden acceder las plantas directamente, en amoníaco (NH_3), molécula que las plantas sí pueden asimilar. Estos microorganismos incluyen bacterias de diferentes tipos, como las de vida libre en el suelo, las que viven sobre las raíces o rizosféricas, las que viven dentro de la planta o endofíticas, y aquellas que son capaces de formar nódulos simbióticos. Las bacterias endofíticas son especialmente prometedoras porque pueden colonizar las plantas sin causarles daño, proporcionándoles nitrógeno directamente y encontrando menos competencia que la que encontrarían en el suelo. Además, las condiciones de vida que encuentran dentro de la planta contribuyen a una mejor fijación de nitrógeno, ya que ésta requiere de bajos niveles de oxígeno para una reacción eficiente.

Hasta la fecha, las bacterias endofíticas fijadoras de nitrógeno se han aislado principalmente de plantas monocotiledóneas, incluyendo especies como la caña de azúcar, el arroz, el maíz, el trigo o el sorgo. También se han encontrado en musgos y coníferas, aunque se sabe poco sobre su presencia en dicotiledóneas.

MICROORGANISMOS AUTÓCTONOS

Numerosos estudios demuestran que los microorganismos fijadores de nitrógeno deben estar adaptados al medio, ya que pueden verse afectados tanto por el pH como por la composición del suelo. Además, también sugieren que es necesario que las bacterias introducidas como fertilizante sean compatibles con las que ya se encuentran presentes en el suelo, de forma que no existan antagonismos ni efectos perjudiciales sobre la microbiota de la rizosfera. Además, se ha descrito que las plantas silvestres poseen una microbiota mucho más diversa y abundante que la presente en las plantas cultivadas. De hecho, hay estudios que han conseguido introducir fijadoras de nitrógeno de especies silvestres en plantas de arroz con éxito (Llorens et al., 2019; Ofek-Lazar et al., 2016).

ESTUDIO EN CÍTRICOS Y TOMATE

Basándonos en los trabajos previos de otros investigadores, y con el objetivo de poder aplicar estos conocimientos a la agricultura de la zona, el grupo de investigación de Bioquímica y Biotecnología de la Universitat Jaume I aisló en el presente trabajo diferentes bacterias de plantas procedentes de especies silvestres pertenecientes a familias de interés agrícola, específicamente las familias Solanaceae y Rutaceae, con *Solanum nigrum* como el pariente silvestre del tomate y *Ruda graveolens* como el pariente silvestre de las plantas de cítrico, que fueron recogidas en diferentes zonas de la provincia de Castellón. De esta forma, se aseguraba la compatibilidad entre planta, microorganismo y suelo. Los primeros resultados mostraron que varios de estos aislados bacterianos tenían la capacidad de fijar nitrógeno del aire para poder ser aprovechado por las plantas, ya que crecieron en medios de cultivo que carecían de componentes nitrogenados. Después de varias pruebas genéticas y moleculares, los aislados se caracterizaron por secuenciación para comprobar a qué especies bacterianas pertenecían, se seleccionaron aquellas bacterias más prometedoras y se realizaron los primeros ensayos de efectividad.

Finalmente, el estudio se llevó a cabo utilizando diez aislados bacterianos. Los inóculos se aplicaron a 180 plantas por ensayo, distribuidas en dos grupos: uno con riego normal y otro con un 80 por ciento de carencia de nitrógeno. En los ensayos de cítricos se utilizaron plantones de citrange Carrizo, mientras que en las pruebas con tomate se emplearon plántulas de la variedad Tomata Valenciana.

Los plantones fueron lavados, marcados y medidos antes de ser inoculados con las bacterias. Las raíces de las plantas control se sumergieron en agua durante 30 minutos, mientras que las plantas inoculadas se sumergieron en una solución con los inóculos bacterianos. Las plantas se mantuvieron en invernadero durante tres meses para observar el efecto de los tratamientos midiendo diferentes parámetros fisiológicos.

El uso de bacterias aisladas de plantas autóctonas no solo mejora el crecimiento y los niveles de nitrógeno en las plantas, sino que fomenta un mayor crecimiento cuando las plantas de origen pertenecen a la misma familia.



FIGURA 2. DISTINTOS MOMENTOS DE LA PREPARACIÓN DEL ENSAYO.

A. Preparación de los distintos grupos de plantas con sus respectivos inóculos en vasos de precipitado.

B. Inoculación radicular manteniendo las raíces en contacto con la suspensión bacteriana.

C. Disposición de las plantas de cítricos.

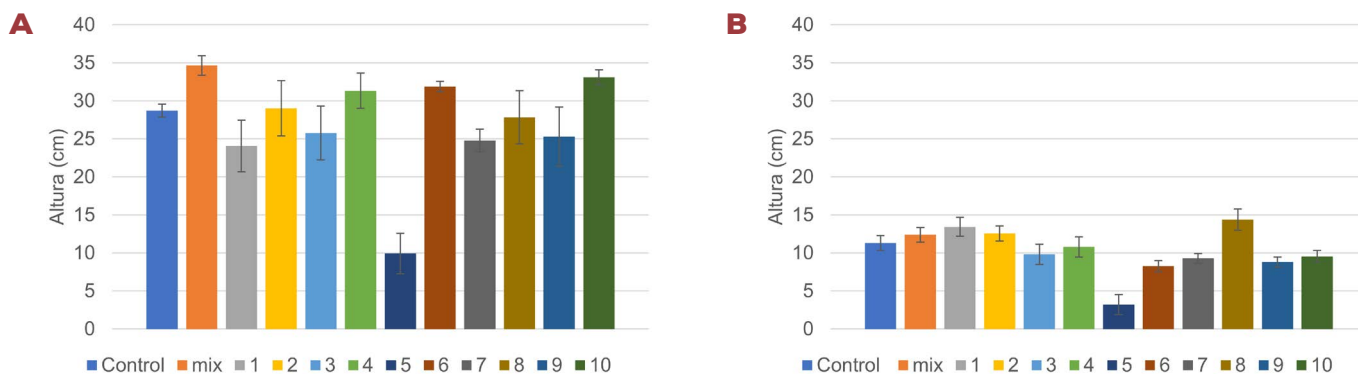
D. Plántulas de tomate.



RESULTADOS EN PLANTAS DE CÍTRICO

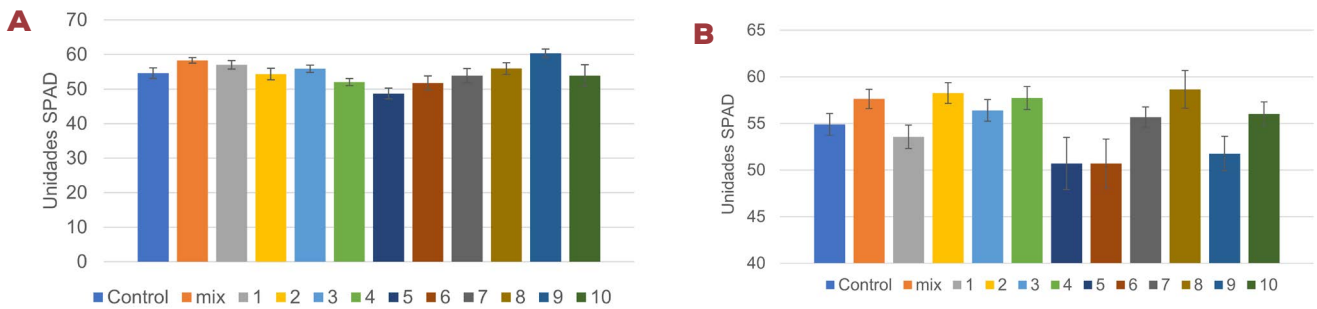
La **Figura 3** representa las medias de las mediciones de longitud de la brotación en plantas control e inoculadas con cada una de las diez cepas, y el mix de todas ellas, en riego normal (A) y con carencia (B). La longitud de brotación se midió al inicio y al final del ensayo. En condiciones de riego normal, las plantas inoculadas con la mezcla de bacterias (mix) y las cepas 6 y 10 mostraron un crecimiento significativo. La cepa 5, sin embargo, tuvo un efecto negativo. Bajo carencia de nitrógeno, se observó una reducción general en el crecimiento, aunque las cepas 1, 2 y 8 mostraron una ligera mejora. De la misma forma, al finalizar el ensayo, se pesaron las plantas separando las partes subterráneas y aéreas. En riego normal, las plantas inoculadas con la mezcla y ciertas cepas mostraron un aumento de peso, mientras que, en condiciones de carencia de nitrógeno, solo las cepas 2 y 8 presentaron un mayor peso seco.

FIGURA 3. RESULTADOS DE LA MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS EN PLANTAS REGADAS CON SOLUCIÓN NUTRITIVA COMPLETA (A) Y CON CARENCIA DE NITRÓGENO (B).



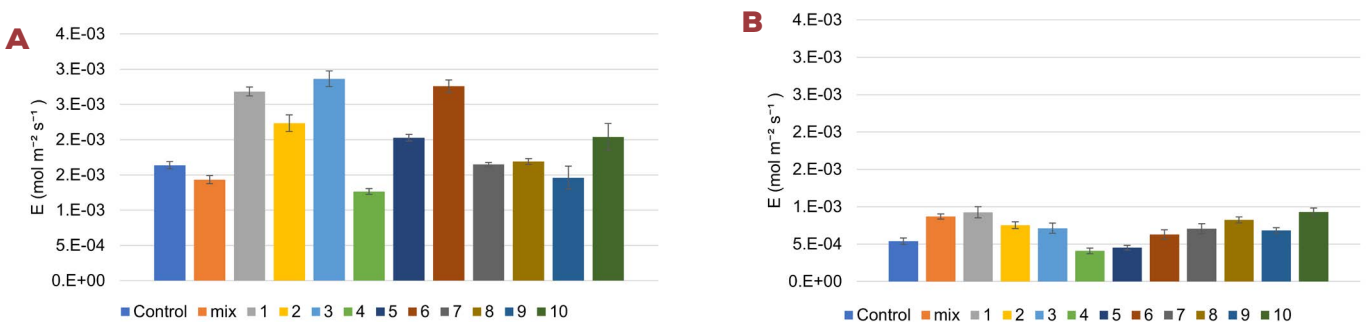
En cuanto a los parámetros fisiológicos, se realizaron mediciones de clorofila, utilizando un detector SPAD (**Figura 4**). Los resultados indicaron que las plantas inoculadas con la cepa 9 presentaron niveles elevados en condiciones de riego normal, mientras que, en condiciones de carencia de nitrógeno, los inóculos mix, 2, 4 y 8 ayudaron a mantener niveles de clorofila similares a las plantas con riego normal, indicando una mitigación del estrés.

FIGURA 4. RESULTADOS DE LAS MEDIDAS DE LAS CANTIDADES DE CLOROFILAS EN HOJAS EN PLANTAS REGADAS CON SOLUCIÓN NUTRITIVA COMPLETA (A) Y CON CARENCIA DE NITRÓGENO (B).



La tasa fotosintética y la transpiración se midieron utilizando un analizador de fotosíntesis portátil. Las plantas inoculadas con las cepas 1, 2, 3, 6 y 10 mostraron una mayor transpiración en condiciones normales. Bajo carencia de nitrógeno, las cepas mix y varias otras incrementaron significativamente la tasa fotosintética y la transpiración. Finalmente, el análisis del contenido de nitrógeno foliar mostró que las plantas inoculadas y regadas con solución nutritiva completa no tenían diferencias significativas en comparación con el control. Sin embargo, en condiciones de carencia de nitrógeno, casi todas las cepas, excepto la 9, mostraron un aumento en el contenido de nitrógeno foliar.

FIGURA 5. RESULTADOS DE LA MEDIDA DE LA TASA DE TRANSPIRACIÓN EN PLANTAS REGADAS CON SOLUCIÓN NUTRITIVA COMPLETA (A) Y CON CARENCIA DE NITRÓGENO (B).



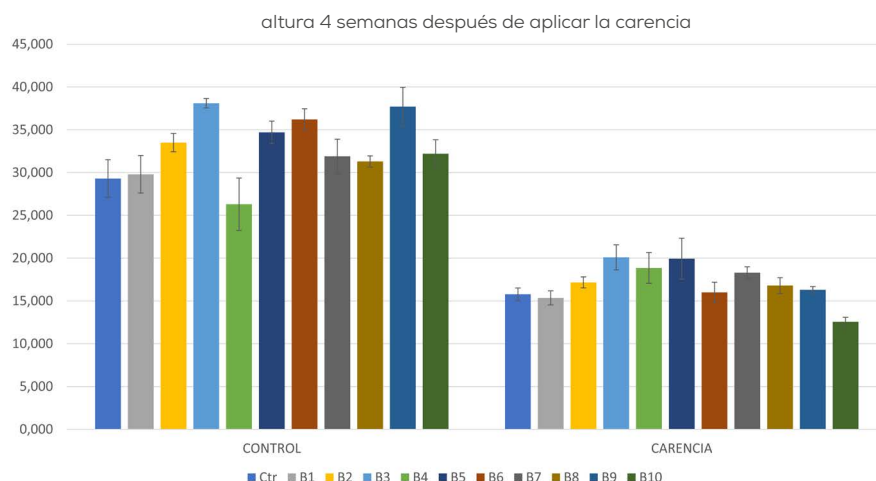
Estas bacterias, al promover el desarrollo saludable de los cultivos y ayudar a mitigar el estrés por carencia de nutrientes, son una solución para prácticas agrícolas más sostenibles.

RESULTADOS EN TOMATE

Los resultados obtenidos en plantas de tomate son similares a los descritos anteriormente en cítricos. Las plantas inoculadas con las cepas 3, 5, 6 y 9 crecieron significativamente mejor bajo riego normal. En condiciones de carencia de nitrógeno, las cepas 3, 4 y 5 mostraron un mayor crecimiento. En cuanto al peso, las plantas inoculadas no presentaron diferencias significativas en peso seco total respecto al control, aunque las cepas 7, 8, 9 y 10 mostraron un peso ligeramente inferior. Además, bajo carencia de nitrógeno, la mayoría de las plantas no presentaron diferencias significativas, excepto las inoculadas con la cepa 10.

En cuanto a los parámetros fotosintéticos, en condiciones control, la mayoría de las cepas mantuvieron o mejoraron la tasa fotosintética y de transpiración en comparación con las plantas control. En carencia de nitrógeno, todas las plantas inoculadas mostraron una tasa fotosintética significativamente mayor que el control.

FIGURA 6. MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO DE LA PARTE AÉREA DE LAS PLANTAS DE TOMATE REGADAS CON SOLUCIÓN NUTRITIVA COMPLETA Y CON CARENCIA DE NITRÓGENO.



AGRADECIMIENTOS

Estos estudios se han realizado gracias a los proyectos concedidos por la Diputació de Castelló durante los años 2022, 2023 y 2024.

>Autores del artículo:

Eugenio Llorens, Loredana Scalschi, Luisa Liu Xu, Pilar Troncho, Patricia Gargallo, Verónica Ramírez, Lorena Sánchez Giménez, Atefeh Farvardin, Gemma Camañes y Begonya Vicedo.
Grupo de Bioquímica y Biotecnología.
Departamento de Biología, Bioquímica y Ciencias Naturales. Universitat Jaume I de Castelló.
bvicedo@camn.uji.es

CONCLUSIONES



El estudio ha demostrado que el uso de bacterias aisladas de plantas autóctonas no solo mejora el crecimiento y los niveles de nitrógeno en las plantas, sino que también fomenta un mayor crecimiento cuando las plantas de origen pertenecen a la misma familia, mostrando una notable especificidad. Este descubrimiento sugiere que el uso de inóculos bacterianos podría ser una herramienta eficaz para reducir la dependencia de fertilizantes químicos en la agricultura. Sin embargo, sería necesario comprobar primero la especificidad de los inóculos utilizados y comprobar su capacidad de crear simbiosis o crecer en los entornos en los que se quieren aplicar. Los hallazgos indican que estas bacterias no solo promueven el desarrollo saludable de los cultivos, sino que también ayudan a mitigar el estrés por carencia de nutrientes, posicionándose como una solución prometedora para prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.