

# Una fábrica de fertilizantes en la raíz del frijol

VÍCTOR GONZÁLEZ

Víctor Manuel González Zúñiga es Doctor en Biotecnología de la UNAM. Es Investigador en el Centro de Ciencias Genómicas de la UNAM e Investigador Nivel 2 del SNI. Se ha dedicado a estudiar la diversidad y genómica de la bacteria simbiote *Rhizobium*. Actualmente estudia el microbioma de la rizósfera de frijol, y su objetivo es saber cómo las bacterias que lo componen interactúan con virus depredadores. Es miembro de la Academia de Ciencias de Morelos.

Esta publicación fue revisada por el comité editorial de la Academia de Ciencias de Morelos.

El nitrógeno es uno de los elementos químicos esenciales para la vida tal como la conocemos. Forma parte de los ácidos nucleicos que forman moléculas de la herencia (ADN y ARN), y de las proteínas, las moléculas que le dan estructura a las células y ejecutan las funciones. El nitrógeno en estado gaseoso ( $N_2$ ), abunda en la atmósfera, pero en esta forma elemental no puede ser incorporado prácticamente a ningún ser vivo. Este es precisamente el propósito de esta colaboración: explicar en términos generales, cómo el nitrógeno llega a ser parte de los seres vivos mediante las asociaciones mutualistas microbios-plantas, y cómo podrían formar “fábricas de fertilizantes naturales”.

## Desde la atmósfera a las plantas

En una serie de investigaciones publicadas a finales del siglo XIX, Sergei Winogradski (1851-1931), ver Figura 1b, un influyente microbiólogo ucraniano, explicó cómo, para ser asimilado, el nitrógeno pasa por diferentes estados químicos y es reciclado en la naturaleza. El nitrógeno de la atmósfera es convertido a compuestos como el *amonio*, *nitratos* y *nitritos* en el suelo y en el océano debido a la actividad de diversos microorganismos de vida libre. Aunque el nitrógeno gaseoso puede convertirse en nitratos a través de descargas eléctricas en la atmósfera, la mayor parte del nitrógeno de utilidad para los organismos vivos se produce por medio del fenómeno bioquímico conocido como “ *fijación biológica de nitrógeno*”. Este proceso consiste en la síntesis enzimática de amonio a partir del nitrógeno gaseoso por medio de una enzima llamada *nitrogenasa*. Solamente algunas especies de organismos unicelulares procariontes tienen esta enzima y por lo mismo, la

propiedad de fijar nitrógeno, fenómeno que llevan a cabo en condiciones de poco oxígeno. Estos organismos son conocidos como *diazótrofos* (“di” = dos, “azo” = nitrógeno y “trofo” = que se alimenta). Es decir, asimilan nitrógeno y lo convierten en amonio, el cual pueden compartir con



las plantas en un proceso de mutua ayuda conocido como *simbiosis*.

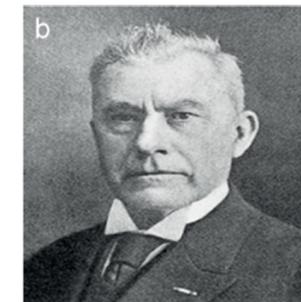
Figura 1. Fundadores de la ecología microbiana, Sergei Winogradski (a) y Martinus Beijerinck (b). Descubridores del ciclo del nitrógeno y de las bacterias simbiotes fijadoras de nitrógeno. Tomadas de Wikipedia. [https://en.wikipedia.org/wiki/Sergei\\_Winogradsky](https://en.wikipedia.org/wiki/Sergei_Winogradsky) [https://en.wikipedia.org/wiki/Martinus\\_Bejerinck](https://en.wikipedia.org/wiki/Martinus_Bejerinck).

En efecto, existen *diazótrofos* de vida libre y también, asociados a un organismo eucarionte multicelular como algunas familias de plantas, por ejemplo, las leguminosas. Martinus Beijerinck (1851-1931), ver Figura 1b, un influyente microbiólogo holandés, descubrió que en las raíces de las leguminosas se desarrollan abundantes protuberancias globulares o nódulos, en cuyo interior se encuentran encerradas millones de bacterias. Es así, como en los nódulos las bacterias comúnmente llamadas *rizobias*, transforman el nitrógeno atmosférico en amonio, el cual es utilizado para el crecimiento de la planta.

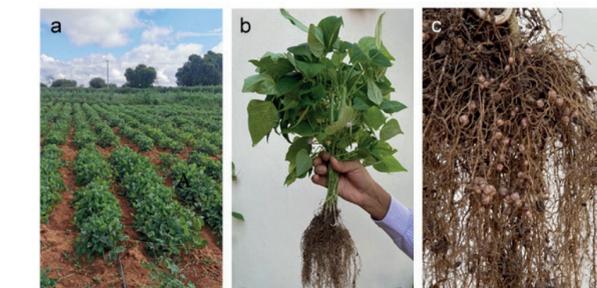
## En el nódulo

A simple vista, los nódulos de las raíces de las leguminosas parecerían una infección muy seria (Figura 2c). En cierto sentido sí lo es, pero es una infección benigna. Es una asociación mutualista, como ya se citó líneas arriba, denominada *simbiosis* en la que los dos seres vivos pueden crecer y reproducirse al coexistir. Las *rizobias* son un conjunto diverso de especies de bacterias que se asocian con pastos, árboles, y con varias leguminosas

domesticadas y cultivadas por el hombre entre 7 y 10 mil años. Una leguminosa domesticada en México es el frijol, cuyo papel en la alimentación humana en México y países latinoamericanos y africanos es fundamental (ver lectura recomendada 2).



Adentro de los nódulos, las bacterias sintetizan activamente amonio; la planta de frijol lo incorpora, crece, florece y al final de su ciclo produce vainas con semillas compuestas de una proporción



muy alta de nitrógeno en forma de proteínas.

Figura 2. El frijol: del campo a la raíz. a, parcela experimental con frijol en el INIFAP-Zacatecas. b, planta de frijol con algunas vainas y flores, y su sistema radicular. c, vista ampliada de la raíz de la planta de frijol con abundantes nódulos rojizos, signo de la actividad de fijación de nitrógeno. b y c corresponden a plantas de frijol crecidas en jardín (Cuernavaca). Fotografías de Griselda López Romo y Víctor González.

Solamente algunas especies de bacterias *-diazótrofos-* mencionadas arriba pueden fijar nitrógeno y un grupo muy especial de estas, conocidas como *rizobias*, lo hacen en simbiosis con leguminosas. Científicamente las especies

de *rizobia* se nombran de acuerdo con la clasificación binomial de Carlos Linneo (S. XVIII) para todos los seres vivos. Así, existen géneros como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Ensifer*, *Sinorhizobium* en una lista cada vez más amplia.

En México, tanto las parcelas agrícolas dedicadas al cultivo de frijol de manera tradicional o intensivo, como los suelos no perturbados por la agricultura albergan una enorme cantidad de especies de *Rhizobium*, muchas de ellas asociadas con las plantas de frijol. Ejemplos de ellas son: *R. etli*, *R. phaseoli*, *R. hidalgense*, *R. esperanzae*, *E. americanum*, y otras más en una lista muy extensa.

Las *rizobias* en el nódulo de la raíz reciben compuestos de carbono, esencialmente azúcares, producto de la fotosíntesis que realiza la planta. Esto les suministra a las bacterias energía para sobrevivir y continuar fijando nitrógeno. Pero la presencia de las *rizobias* no se limita al nódulo. A lo largo del desarrollo de la planta, desde la germinación de la

semilla hasta la floración y muerte de la planta, multitud de microorganismos proliferan en la raíz. Entre ellas una población de *rizobias* simbiotes nunca entraron al nódulo. Esto significa mayores oportunidades de reproducción y variación de las especies de *Rhizobium*, y por consiguiente adaptación y evolución a largo plazo. Se ha observado que solamente algunas cepas de *Rhizobium* dentro de esa gran población son lo suficientemente competitivas como para ocupar los nódulos, sin importar si son eficientes fijadoras de nitrógeno. Un equilibrio muy fino entre las *rizobia* y la planta regula la interacción simbiótica de tal manera que los nódulos solo se ocupen con *rizobias* fijadoras de nitrógeno.

Al final del ciclo de cultivo del frijol, el

agricultor recoge las vainas llenas de semillas, la planta muere y las *rizobias* encerradas en el nódulo, junto con otras especies de bacterias y hongos que crecieron en la planta y alrededor de la raíz, pueden reintegrarse al suelo. Junto con los residuos orgánicos de la planta, la actividad fisiológica de los microorganismos permite enriquecer el suelo con nutrientes, incluido el *amonio* y un nuevo cultivo, distinto del frijol, puede ser introducido. La rotación de los cultivos es una práctica tradicional que permite aprovechar toda la capacidad del suelo y mantener su fertilidad.

## Fertilizantes industriales y biológicos

El uso de fertilizantes nitrogenados sintetizados químicamente con el proceso inventado por Fritz Haber y Carl Bosch a principios del siglo XX, permitió solventar el problema de los suelos empobrecidos de nutrientes debido a la intensa explotación agrícola, o bien utilizar suelos deficientes en nitrógeno y que no son apropiados para el cultivo. Se logró con ello detener grandes hambrunas ocurridas en el siglo XX al incrementar la producción agrícola. Hoy en día gran parte de la producción agrícola depende de suministrar fertilizantes químicos basados en nitrógeno, fósforo y potasio a los cultivos. Un efecto indeseado derivado del uso extendido de fertilizantes químicos ha provocado la acumulación de nitrógeno en el suelo con dos consecuencias: altera el balance entre el nitrógeno y el fósforo, e incrementa la emisión de gases de efecto invernadero como bióxido de carbono y óxidos de nitrógeno que se liberan a la atmósfera dañando la capa de ozono. Además de ello, causa proliferación excesiva de organismos indeseables en cuerpos de agua y contaminación de mantos freáticos.

## Más que un nódulo

Más allá del nódulo y la fijación de nitrógeno, la rizósfera -la zona del suelo que rodea las raíces de plantas - del frijol es un nicho ecológico único, plenamente habitado por una multitud diversa de especies de bacterias, virus y hongos que forman el *microbioma* de la raíz. En la rizósfera, las especies bacterianas compiten unas con otras por los nutrientes derivados de la planta en forma de exudados, pero a la vez producen compuestos estimulantes del crecimiento de la raíz y en consecuencia aumentan la superficie de absorción de agua y nutrientes, como lo hace *Bacillus velezensis* en las raíces de *Arabidopsis thaliana*, una planta herbácea ampliamente utilizada como modelo experimental en la investigación moderna. El *microbioma* de la rizósfera tiene también un papel protector contra la colonización de bacterias y hongos causantes de enfermedades en la raíz, además de contribuir a solubilizar compuestos minerales como el fosfato haciéndolos accesibles para toda la comunidad de organismos.

Paradójicamente, hemos hecho un uso limitado de las grandes posibilidades de los inoculantes basados en microorganismos *diazótrofos* y promotores del crecimiento. Los biofertilizantes basados en bacterias fijadoras de nitrógeno fueron inventados a la par del descubrimiento de la fijación simbiótica de nitrógeno. En 1893 Friedrich Nobbe y Lorenz Hiltner presentaron en los E.E. U.U. la primera patente sobre el uso de inoculantes microbiológicos para el cultivo de leguminosas. En esta solicitud se menciona la propiedad biológica de las bacterias del nódulo para fijar nitrógeno, y el propósito del producto “Nitragin” para promover el crecimiento vegetal. Este método ha sido reproducido con algunas variaciones por diversas compañías biotecnológicas alrededor del mundo. Las formulaciones consisten en millones de bacterias *diazótrofas* como

*Rhizobium* y *Azospirillum*, mezclas con un compuesto acarreador, turba y carbonato de calcio, que se aplican directamente a la semilla antes de la siembra. Los biofertilizantes disminuyen la dependencia de los fertilizantes industriales, incrementan el número de nódulos fijadores de nitrógeno en la raíz de la planta, y la producción de semillas con un mayor contenido de nitrógeno.

Las formulaciones de los inoculantes biológicos generalmente se basan en cepas de *Rhizobium* seleccionadas de acuerdo con sus cualidades simbióticas superiores. El éxito de la aplicación de las fertilizantes depende de la capacidad de la cepa bacteriana para ocupar y desarrollar nódulos. Sin embargo, no es una tarea fácil para las *rizobia* introducidas competir con las comunidades microbianas previamente establecidas en el suelo. A menudo ocurre que las *rizobias* nativas están adaptadas a las condiciones bióticas y abióticas locales, y superan a las *rizobias* introducidas ganándose el acceso a la nodulación de la planta. Aparte de ello, las bacterias del inóculo están expuestas a la depredación por virus bacterianos (bacteriófagos) y nemátodos, así como al estrés causado por las variaciones en el pH, la salinidad, humedad y temperatura del suelo. Aunque hay muchos casos de éxito reportados en la literatura en términos de productividad agrícola, el uso de los inoculantes no se ha extendido tanto como sería deseable y sigue siendo necesario el empleo de los fertilizantes industriales para mejorar la productividad.

## Más que un nódulo

Más allá del nódulo y la fijación de nitrógeno, la rizósfera -la zona del suelo que rodea las raíces de plantas - del frijol es un nicho ecológico único, plenamente habitado por una multitud diversa de especies de bacterias, virus y hongos que forman el *microbioma* de la raíz. En la rizósfera, las especies bacterianas compiten unas con otras por los nutrientes derivados de la planta en forma de exudados, pero a la vez producen compuestos estimulantes del crecimiento de la raíz y en consecuencia aumentan la superficie de absorción de agua y nutrientes, como lo hace *Bacillus velezensis* en las raíces de *Arabidopsis thaliana*, una planta herbácea ampliamente utilizada como modelo experimental en la investigación moderna. El *microbioma* de la rizósfera tiene también un papel protector contra la colonización de bacterias y hongos causantes de enfermedades en la raíz, además de contribuir a solubilizar compuestos minerales como el fosfato haciéndolos accesibles para toda la comunidad de organismos.

Apenas se comienza a delinear la amplia red de interacciones entre las especies microbianas en la rizósfera. Las técnicas modernas como la metagenómica, que consiste en la secuenciación de ADN obtenido directamente del ambiente: rizósfera, suelo, mar, o aún aire, permiten estimar la diversidad de especies de microorganismos que existen en un nicho

particular. Por eso sabemos que hay una diversidad enorme de especies bacterianas en la rizósfera de plantas como el maíz, el jitomate, el arroz, y otras más de importancia alimenticia. En la rizósfera del frijol conocemos que *Rhizobium* está acompañado por diversas especies bacterianas conocidas como promotoras del crecimiento vegetal que pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, *Variovorax* y muchas otras especies que forman un mundo raro de microorganismos cuya función no está a la vista, pero que individualmente y en conjunto contribuyen al crecimiento vegetal y a proteger la planta de posibles patógenos.

Actualmente, en diversos laboratorios del mundo se está experimentando con fertilizantes biológicos basados en combinaciones de cepas fijadoras de nitrógeno y promotoras de crecimiento no solo para leguminosas como el frijol y la soya sino también para el maíz y otros cereales, con resultados prometedores (ver lectura recomendada 1).

## Perspectivas

Las actividades fisiológicas de los microbios están íntimamente asociadas a los problemas de la sustentabilidad de la agricultura y el cambio climático, tópicos de mucha discusión en la actualidad. Las ciencias genómicas aplicadas a la ecología de los microorganismos pueden aportar elementos para un mejor manejo de la agricultura. Ahora podemos analizar profundamente la diversidad y función de los microorganismos de la rizósfera de plantas de importancia agrícola y posibilitar el diseño de una nueva generación de fertilizantes biológicos basados en comunidades de microorganismos más allá de las leguminosas; por ejemplo, en cereales como el maíz, el trigo o el arroz. Este tipo de asociaciones mutualistas microbios-plantas se encuentran en la naturaleza. En los tallos del maíz se han encontrado bacterias *diazótrofas* como *Azospirillum* y *Rhizobium*. En la sierra Mixe de Oaxaca se cultiva un tipo muy especial de maíz adaptado a las pobres condiciones del suelo de esas localidades. Esta variedad llamada comúnmente “*olotón*”, tiene raíces que salen del tallo y están cubiertas de un mucilago. Se ha descubierto que una comunidad muy diversa de microorganismos habita en este mucilago y entre ellos hay bacterias *diazótrofas*. El crecimiento de esta variedad de maíz se explica parcialmente por esta capacidad de obtener nitrógeno que le da la comunidad bacteriana (ver lectura recomendada 2).

La investigación detallada de las comunidades de la rizósfera de las plantas cultivadas en relación con la fijación biológica de nitrógeno, promoción del crecimiento y protección contra posibles patógenos, nos proporciona información valiosa para entender su funcionamiento y su eventual aplicación en una amplia variedad de situaciones agrícolas. Hoy la demanda de alimentos en México y en el mundo requiere de una agricultura basada en un ensamble de aplicaciones, que permitan un balance razonado científicamente entre el uso de fertilizantes biológicos e industriales. Un enfoque así puede ser más efectivo para



avanzar hacia una agricultura sustentable.

Figura 3. Raíces aéreas del maíz “olotón” cultivado en la región Mixe de Oaxaca. Fotografía tomada de <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006352>.

Agradecimientos especiales a Agustín B. Avila Casanueva por sus comentarios y correcciones, y al Comité Editorial de la Academia de Ciencias de Morelos.

## Lecturas recomendadas

- Gómez-Godínez, J., Martínez, E., Banuelos, J., and Arteaga-Garibay, R. I., 2021. Tools and challenges to exploit microbial communities in agriculture. *Current Research in Microbial Sciences* 2 (2021) 100062. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100062>. Excelente revisión especializada sobre las combinaciones de microorganismos promotores del crecimiento de las plantas para su uso como biofertilizantes.
- Saburido, M. S. y Herrera-Estrella, A., 2015. El frijol en la era genómica. *Revista Digital Universitaria* 16: 1-16. <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num2/art11/art11.pdf>. Un artículo que sitúa la importancia de conocer el genoma de la planta de frijol, vista su relevancia como factor nutricional y económico.
- Van Deynze, A., et al., 2018. Nitrogen fixation in a landrace of maize is supported by a mucilage-associated diazotrophic microbiota. *Plos Biology* 16(8): e2006352. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006352>. El artículo que describe la excepcional asociación microbiana fijadora de nitrógeno con el maíz.

Esta columna se prepara y edita semana con semana, en conjunto con investigadores morelenses convencidos del valor del conocimiento científico para el desarrollo social y económico de Morelos. Desde la Academia de Ciencias de Morelos externamos nuestra preocupación por el vacío que genera la extinción de la Secretaría de Innovación, Ciencia y Tecnología dentro del ecosistema de innovación estatal que se debilita sin la participación del Gobierno del Estado.