

Ing. Alejandro Peticari Proyecto Inocular

Como ya se manifestó, en nuestro país la producción de soja depende de los aportes de N disponibles en el suelo y de la FBN originada en la simbiosis, ya que es muy bajo el consumo de fertilizantes químicos nitrogenados. En los últimos años a través de numerosos ensayos experimentales, empleando productos inoculantes de excelente calidad se determinó que al utilizar cepas con máximo potencial fijador se pueden incrementar significativamente los rendimientos incluso aún en ambientes con cultivos sucesivos de soja (Nari, et al, 1999, Peticari, et al 2002). Desde el año 2000, en áreas nuevas para el cultivo de soja en (Entre Ríos, Corrientes y Chaco) se desarrollaron experimentos junto con 12 empresas productoras de inoculantes. Se comprobó que en el primer año de cultivo, cuando se utilizan inoculantes de buena calidad y se aplican correctamente, se logra excelente nodulación y altos niveles de FBN, que en ausencia de limitaciones hídricas se expresa en altos rendimientos (Peticari, Arias y De Battista, 2002). Este trabajo inicial generó la necesidad de darle un marco institucional a esta actividad y se fijó como objetivo principal continuar los ensayos ampliando el área de estudio y dando difusión de los resultados, señalando los beneficios que derivan del adecuado empleo de inoculantes para leguminosas. Esto generó la base para constituir un Convenio de Asistencia Técnica, próximo a la firma, denominado "INOCULAR" entre INTA y 24 empresas.

OBJETIVOS

- 1 - Evaluar los efectos de la inoculación sobre diferentes parámetros de rendimiento en áreas de producción de soja.
- 2 - Difundir los resultados entre investigadores, asesores, productores, proveedores de agroquímicos, etc.

MATERIALES Y MÉTODOS

En 2003/4 dentro de este proyecto y en conjunto con las EEAs INTA:

Concepción del Uruguay (Ing. Normas Arias y Juan José de Battista), Famaillá (Ing. Hector Sánchez), Marcos Juárez (Ing. Hector Baigorri), Parana (Ing. Raúl Vicentini), Pergamino (Ing. Manuel Ferraris) 9 de Julio (Ing. Luis Ventimiglia y Hector Carta), Salta (Ing. Miguel Galván y Adriana Ortega), Rafaela (Ing. Hugo Fontanetto), INTA Río Primero (Ing. Carlos López), Venado Tuerto (Ing. Daniel Damen) e Ing. Agustín Simonella (ex INTA Saenz Peña) se realizaron ensayos de evaluación de los efectos de la inoculación con cepas de *Bradyrhizobium japonicum*. Los lugares de ensayo fueron seleccionados considerando suelos con antecedentes de cultivo de soja previa Y CON baja respuesta a la inoculación y diferentes características edafoclimáticas. El ensayo constó de cinco tratamientos: 1) Control sin inocular; 2) Control sin inocular fertilizado con 800 kg de Urea en diferentes momentos; 3) semillas inoculadas con dosis de 1×10^6 rizobios por semilla, con la cepa de E109; 4) semillas inoculadas con dosis de 1×10^6 rizobios por semilla, con la cepa de SEMIA 5079 y 5) semillas inoculadas con dosis de $0,5 \times 10^6$ rizobios por semilla, de cada una de las cepas E109 y SEMIA 5079.

Se determinó peso y número de nódulos en estado V4 y R5, Biomasa aérea seca en estado R5, peso total de N en R5, % de n en grano y rendimiento en grano. El diseño experimental fue bloques al azar con seis repeticiones en parcelas de 6 m de largo y 4 líneas separadas a 0,52 m. Cosecha: Ocho (8) metros lineales de surco en cada parcela. Con la información obtenida se realizó un ANOVA empleando el método LSD de Tukey al nivel $P=0.05$ para determinar la diferencia entre medias de los diferentes tratamientos. En forma paralela a estos ensayos se realizó una base de datos con experimentos donde se incluyó tratamientos inoculados versus sin inocular.

RESULTADOS

Gráfico 1: Efecto de la inoculación en suelos sin antecedentes de soja.

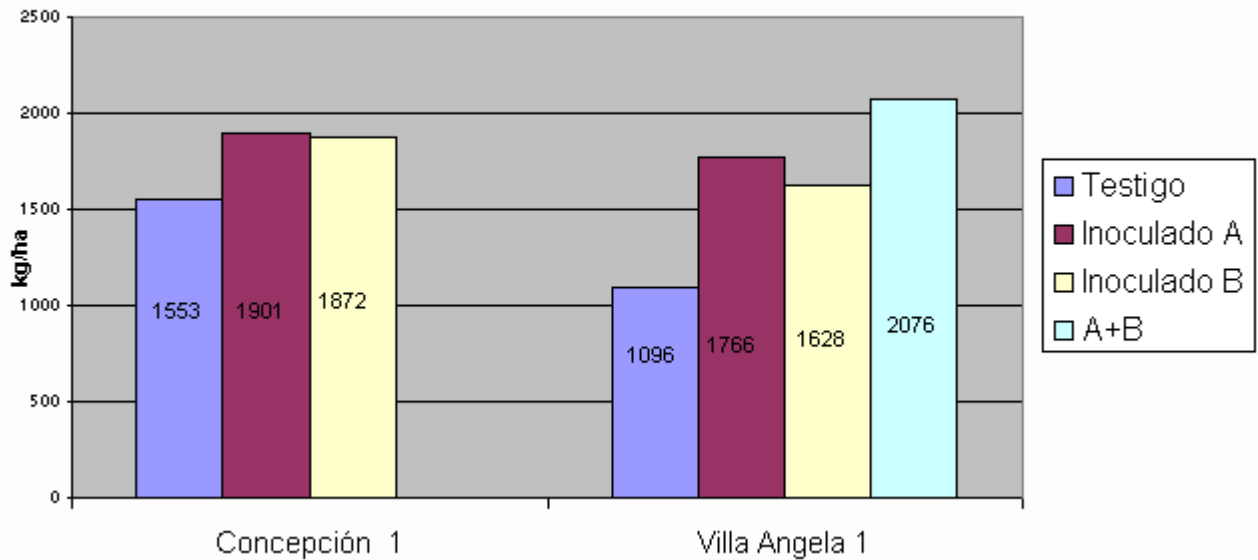
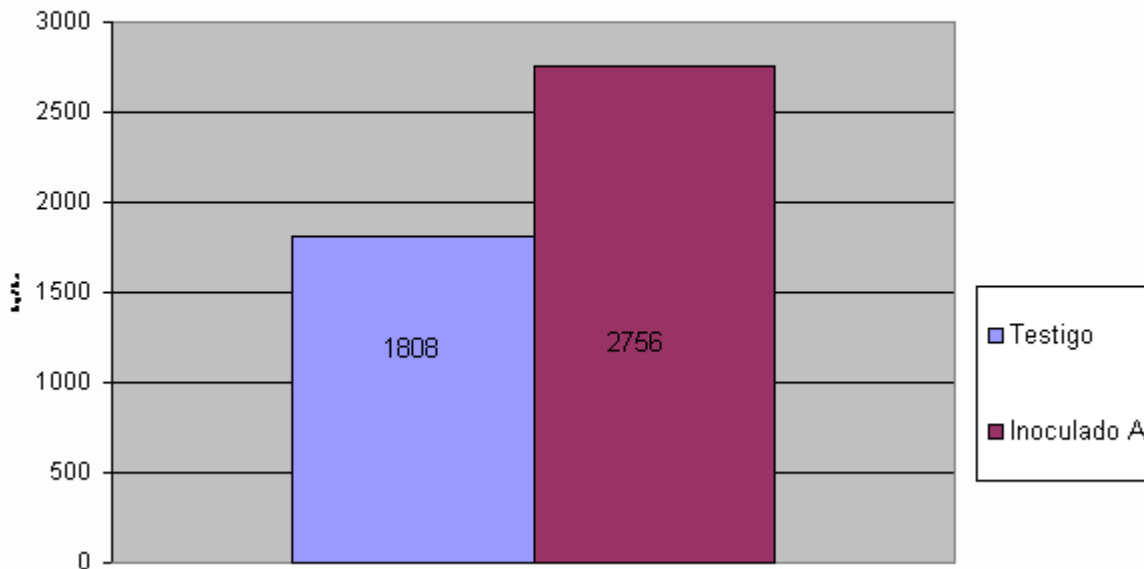


Gráfico 2: Efecto de la inoculación en suelos sin antecedentes de soja. Promedio de 30 ensayos inoculado versus sin inocular



Suelos sin antecedentes de soja: En áreas sojeras nuevas donde los rizobios deben adaptarse a un nuevos ambientes, es indispensable la inoculación con cepas altamente eficientes, agregando alta concentración de rizobios por semilla (si es posible doble dosis de inoculante) y empleando el método que permite una mayor sobrevivencia de la bacteria sobre la semilla (por ejemplo, evitando el uso de funguicidas), en caso contrario la producción puede verse disminuida en forma severa.

Si no hay limitaciones nutricionales ó hídricas se esperan aumentos de rendimiento mínimos del 50% (Suelos nuevos de Entre Ríos, S de Córdoba) y de menor impacto en el C y S de Buenos Aires. En suelos con monocultivo de algodón del Chaco con baja presencia de N a la siembra se han determinado diferencias de rendimiento de 1000 %. Con incrementos de

rendimientos observados mínimos de 500 kg y máximos de 3000 kg/ha. Los resultados de esta campaña (Grafico 1 y 2) son coincidentes con lo expuesto anteriormente.

Reinoculación

Gráfico 3: Efecto de la inoculación sobre el rendimiento en suelos con antecedentes del cultivo de soja. Ciclo 2003/4

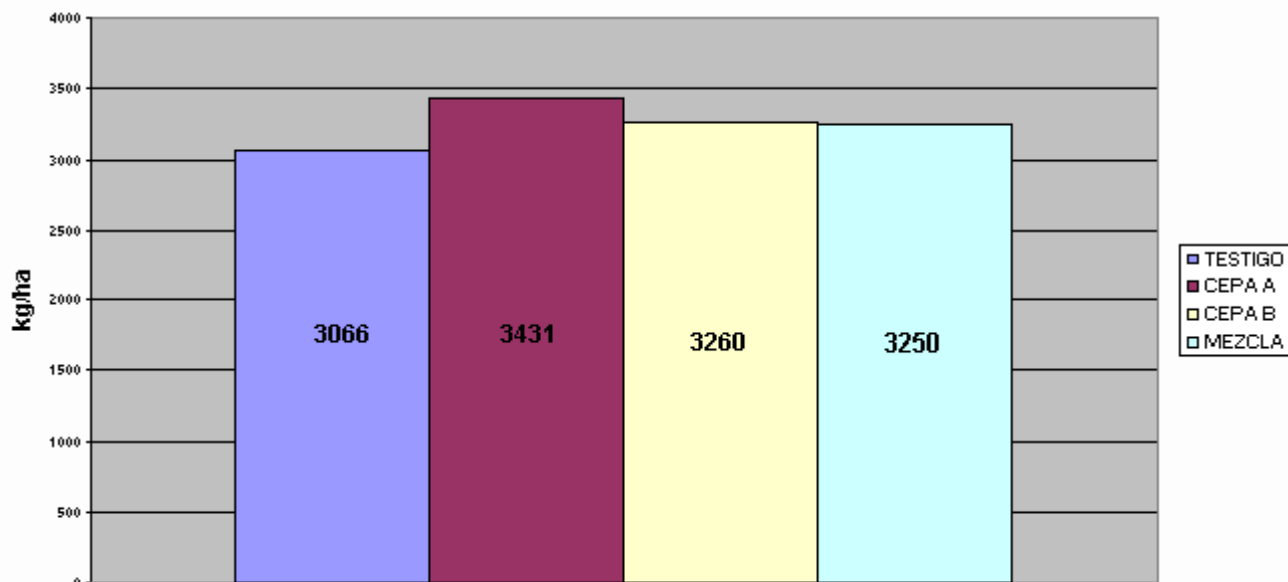
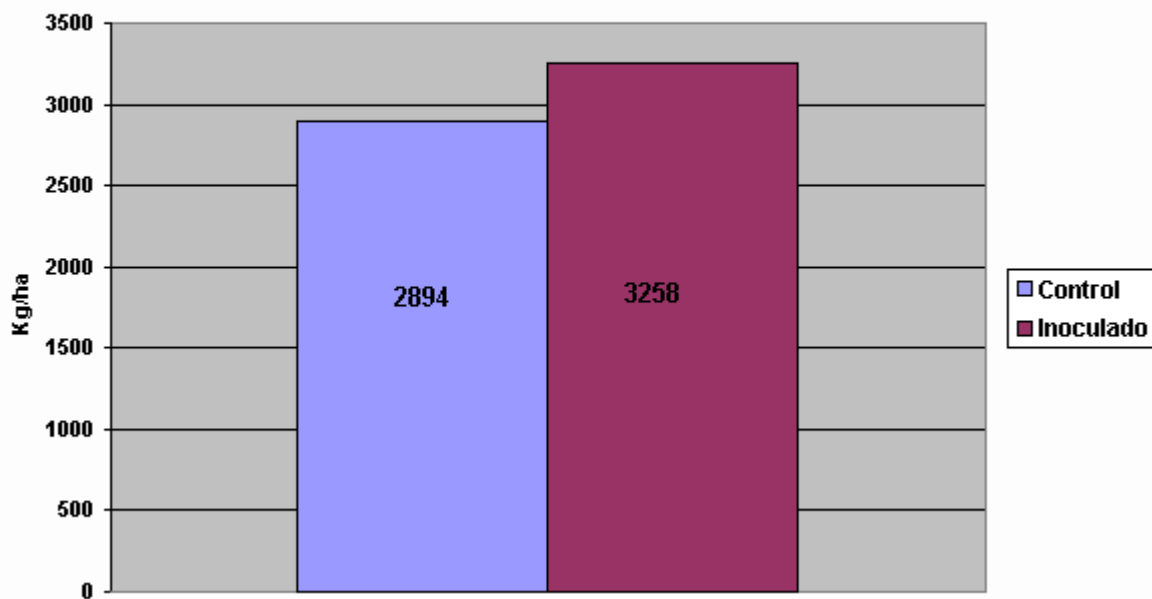


Gráfico 4: Efecto de la inoculación sobre el rendimiento en suelos con antecedentes de soja, promedio de 46 ensayos. ciclo 2003/4



Suelos con antecedentes de soja: En áreas con varias secuencias del cultivo de soja la repetida inoculación anual ha

permitido que los rizobios capaces de nodular soja introducidos se hayan establecido, naturalizado, en la mayoría de los suelos "sojeros". Estas poblaciones varían desde 10^2 (100) hasta 10^5 (100000) rizobios por g de suelo para la región sojera tradicional. Por esta razón es posible observar la presencia de nódulos en las raíces de soja no inoculada en suelos con historia de soja previa. Como tal existe una tendencia a suspender la inoculación luego de varios años de uso repetido en un campo considerando que al observarse nodulación espontánea la fijación de N_2 que requiere el cultivo ya está asegurada. En trabajos de investigación recientes se ha demostrado que los rizobios que se naturalizan en el suelo, van perdiendo eficiencia en la fijación de N, pero mantienen una alta capacidad para formar nódulos. Esto se ha verificado para diferentes suelos del NOA (Montecchia, 2001) y de la región Pampeana como Pergamino, Marcos Juárez, Oliveros, Gualeguay, etc. (Piantanida, 1991; Pacheco Basurco, comunicación personal).

En más de 50 ensayos realizados y controlados por IMYZA y EEA INTA desde 1990 al 2004 en La Cruz (Tucumán), Azul, Pergamino, Bragado, 9 de Julio y Trenque Lauquén (Buenos Aires), Las Lajitas (Salta); Reconquista, Rafaela, Venado Tuerto y Zavalla (Santa Fe), Río Tercero, Marcos Juárez y Oncativo (Córdoba); Paraná, La Paz, Gualeguay y Concepción del Uruguay (Entre Ríos), Las Breñas (Chaco) inoculando con cepas altamente eficientes y métodos de inoculación apropiados, se observó respuesta positiva a la inoculación. Similares resultados, desarrollados por otros grupos de investigación, han sido observados también en toda el área sojera argentina alcanzándose en promedio una respuesta promedio a la inoculación de aproximadamente 200 a 300 kg/ha, equivalentes al 4 – 8 % del rendimiento de los cultivos. En algunos casos esta respuesta llegó a niveles cercanos al 116%.

En el presente ciclo las respuestas fueron positivas a favor de la inoculación en el 80 % de los casos con un incremento medio del 12 % y un aumento de rinde superior a los 350 kg/ha (Gráficos 3 y 4). Las menores respuestas fueron observadas en suelos del N de Córdoba, N de Buenos Aires (Pergamino) y S de Santa Fe (Runciman), en estos casos también se determinó nodulación nula a escasa en los dos momentos de muestreo con nódulos chicos y con peso seco promedio por planta no superior a los 100 mg/planta. In situ era evidente la alta compactación de suelos que no promovió una óptima simbiosis en ningún tratamiento esto se vió acompañado por la falta de precipitaciones en momentos críticos del crecimiento del cultivo. La mayor respuesta a la inoculación se detectó en los ambientes con mayor producción como Huinca Renancó, Rafaela, etc. Es decir que cuando las condiciones de crecimiento no son limitantes la inoculación permitiría al agregar cepas más eficientes aumentar la capacidad de fijación que se traduciría en un mayor rendimiento y por el contrario en condiciones adversas no se observan efectos de este tipo.

Aún así con los mínimos aumentos (5%) se justifica económicamente el uso de inoculante, y dado que es una tecnología de muy bajo costo y con beneficios tanto sobre la producción como sobre la conservación del ambiente al favorecer la eficiente incorporación de N desde la atmósfera en los sistemas productivos.

Estrategia para obtener una mayor respuesta a la inoculación

1. Emplear inoculante de calidad. Es decir con presencia de cepas eficientes y en adecuada concentración.
2. Usar el mejor método de inoculación recomendado por el fabricante. Se trata de un producto biológico y económico. La reducción de gastos en esto es más perjudicial que efectivo. Hay que evitar la mortandad de los rizobios y lograr que las cepas más eficientes formen nódulos porque resultan más fijadores que las cepas del suelo.
3. Como el objetivo final es obtener altos rendimientos, crear las condiciones en pos de ese objetivo. Evitar o controlar la ocurrencia de condiciones críticas tales como fechas de siembra inadecuadas, baja humedad en el suelo y fertilizando si es necesario con los nutrientes distintos de N como por ejemplo P, S y/o micronutrientes.

Para una adecuada nodulación y FBN de soja es primordial el empleo de inoculantes de alta calidad. Estos son los que cuentan con las cepas de rizobios más eficientes y con un alto número de rizobios. También deben considerarse fundamentales el método, el empleo de plaguicidas compatibles y las condiciones de inoculación. Si no se cumplen estos requisitos indispensables se corre el riesgo que la inoculación no sea efectiva. La inoculación es una técnica que merece ser respetada dentro del paquete tecnológico del cultivo

Información Adicional

¿ Que es la FBN?

En la atmósfera terrestre hay una abundante disponibilidad de nitrógeno, 80%, en la forma molecular N_2 . Esta forma de nitrógeno gaseoso debe ser transformada para ser empleada por la mayoría de los organismos vivos. Las bacterias fijadoras de N_2 lo asimilan a través del proceso la FBN convirtiendo el nitrógeno gaseoso

en amonio por intermedio de la enzima nitrogenasa. Así, la soja como muchas leguminosas, tiene la habilidad de asociarse en forma simbiótica con bacterias fijadoras de N_2 llamadas rizobios de los géneros *Bradyrhizobium* y/o *Sinorhizobium*, y obtener a través de la FBN, gran parte del N que requiere para su crecimiento. La FBN comienza con la formación de nuevos órganos en las raíces denominados nódulos, dentro del cual se realiza el proceso de transformación del N del aire. Si las plantas de soja no se encuentran noduladas dependen en forma exclusiva del N presente en el suelo.

El desarrollo final del cultivo, depende tanto el N de la FBN como del disponible en el suelo, ambas fuentes deben complementarse para lograr altos rendimientos.

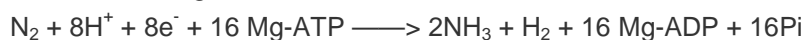
Proceso de formación del nódulo

Las leguminosas secretan compuestos específicos que atraen a los rizobios, bacterias que son habitantes normales del suelo. Entre estos compuestos se encuentran flavonoides y en respuesta a ellos los rizobios activan una serie de genes implicados en la nodulación. El primer paso en la formación de los nódulos es la adherencia de la bacteria a la planta. Después de la unión, los pelos radiculares se enroscan debido a la acción de sustancias específicas secretadas por la bacteria, que se conocen como factores Nod. Los pelos radiculares se enroscan hasta 360° , la bacteria penetra entonces en el pelo radical e induce la formación, por parte de la planta, de un tubo de composición similar a la pared celular, conocido como canal de infección, que avanza por el pelo radical. A continuación, la infección alcanza a las células de la raíz adyacentes a los pelos radicales, y los factores Nod estimulan la división de las células vegetales, produciendo finalmente el nódulo. Las bacterias son liberadas desde el canal de infección al citoplasma de las células vegetales. Se ha teñido a los rizobios para observarlos a lo largo del hilo de infección por ejemplo con el gen que codifica una proteína fluorescente verde con lo cual puede seguirse el camino de estos rizobios bioluminiscentes. Mediante este método, se pudo observar que las bacterias que forman el hilo de infección son provenientes de una única bacteria inicial o a lo sumo, de dos bacterias iniciales diferentes.

Los rizobios quedan separados del citoplasma por una membrana derivada de la planta hospedadora llamada membrana peribacteroidal. A posteriori hay una división continua y sincronizada de los rizobios rodeados por esta membrana. Al cesar la división, las bacterias se transforman en unas formaciones ramificadas, hinchadas y deformes, llamadas bacteroides. Estos quedan rodeados por la membrana, individualmente o en pequeños grupos. La fijación de nitrógeno no se inicia hasta que se han formado los bacteroides. El sistema vascular de la planta se extiende dentro del nódulo y transporta los nutrientes hacia y desde él. La formación de una simbiosis efectiva es un proceso altamente específico; sin embargo, el grado de especificidad varía entre los diferentes rizobios.

El proceso de adhesión e infección es muy rápido y requiere que una cantidad determinada de rizobios estén presentes a medida que emergen los pelos radiculares. Si las bacterias están ausentes se pierde la posibilidad de formar nódulos en esos pelos radiculares preemergentes. Es decir las raíces no son infectibles siempre. Se pudo determinar cuál zona de la raíz es infectable y por cuánto tiempo. Se calcula que en una raíz de soja la infección tiene lugar dentro de las seis horas desde la inoculación de los rizobios sobre la raíz (Bhuvanewari et al., 1981). Si se inocula en diferentes zonas se observa que las zonas más propicias a formar nódulos son aquellas donde hay pelos emergentes y en las que no hay pelos radiculares, y en cambio las posibilidades de formar nódulos son mínimas en las zonas donde hay pelos radiculares maduros al momento de inoculación.

La enzima nitrogenasa cataliza la reacción:



Según las mediciones realizadas para la planta el proceso de FBN es caro en términos de gasto energético. Se consumen 2 a 3 veces más energía para obtener 1 g de N fijado que la que se necesitaría para obtener 1 g de N desde el suelo en la forma de nitratos. Se calcula que se necesitan en soja 12 g de C por g de N fijado.

Durante el proceso de simbiosis la planta también expresa proteínas específicas del nódulo a las que se llama nodulinas. Entre ellas, la leghemoglobina, tiene la función de aportar O_2 a los bacteroides y de controlar sus niveles. La leghemoglobina se localiza en el citosol de las células de la planta infectada por bacteroides y es la que confiere el típico color rojo o rosado de los nódulos funcionales.

Los nódulos no fijadores generalmente son blancos en su interior. Los bacteroides dependen totalmente de la planta para obtener la energía necesaria para la fijación de nitrógeno. El primer producto estable que se obtiene de la fijación de N_2 es el amonio. La planta es responsable de la asimilación de este compuesto para formar compuestos de nitrógeno orgánico en los nódulos radicales lo lleva principalmente la planta. En el caso de soja el amonio generado por los bacteroides es asimilado en forma de alanina y luego exportado vía xilema hacia las hojas como ureídos. Los nódulos se nutren de fotoasimilados en retorno vía floema.

