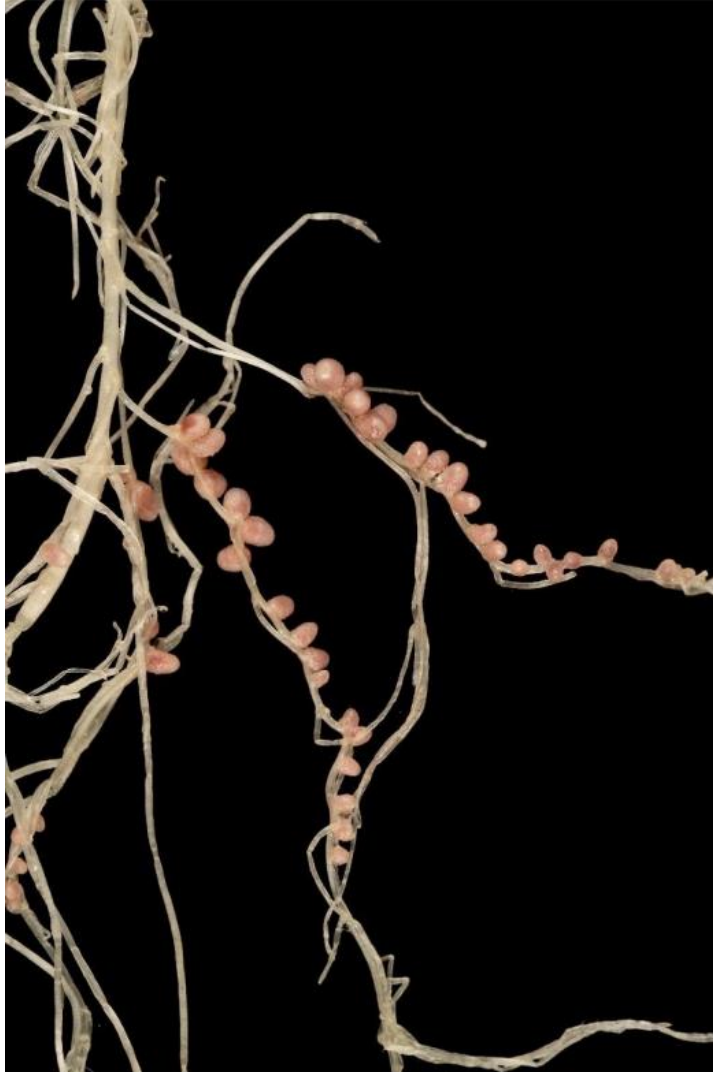


Microbial nitrogen fixation

Pam: ¿Qué son esas extrañas protuberancias rosadas en las raíces de nuestras plantas de guisantes? ¿Las tienen todas las plantas?



Nódulos fijadores de nitrógeno en la raíz de una planta de guisante

Allan Downie¹

¹Departamento de Microbiología Molecular, John Innes Centre, Norwich, U.K.

Fijación de Nitrógeno

Sinopsis

El nitrógeno es un elemento esencial para todas las formas de vida porque es necesario para producir proteínas, ácidos nucleicos y clorofila, el pigmento más importante necesario para la fotosíntesis. Aunque el nitrógeno gaseoso (N_2) constituye aproximadamente el 78% de nuestra atmósfera, ningún organismo puede utilizarlo en esta forma, salvo algunas bacterias especializadas. Estas bacterias «fijadoras de nitrógeno» pueden romper el triple enlace que une los dos átomos de nitrógeno del N_2 por reducción (añadiendo hidrógeno) para producir dos moléculas de amoníaco (NH_3), que luego se incorporan a los aminoácidos para formar proteínas y, en última instancia, ácidos nucleicos, **clorofila** y otros compuestos que contienen nitrógeno.

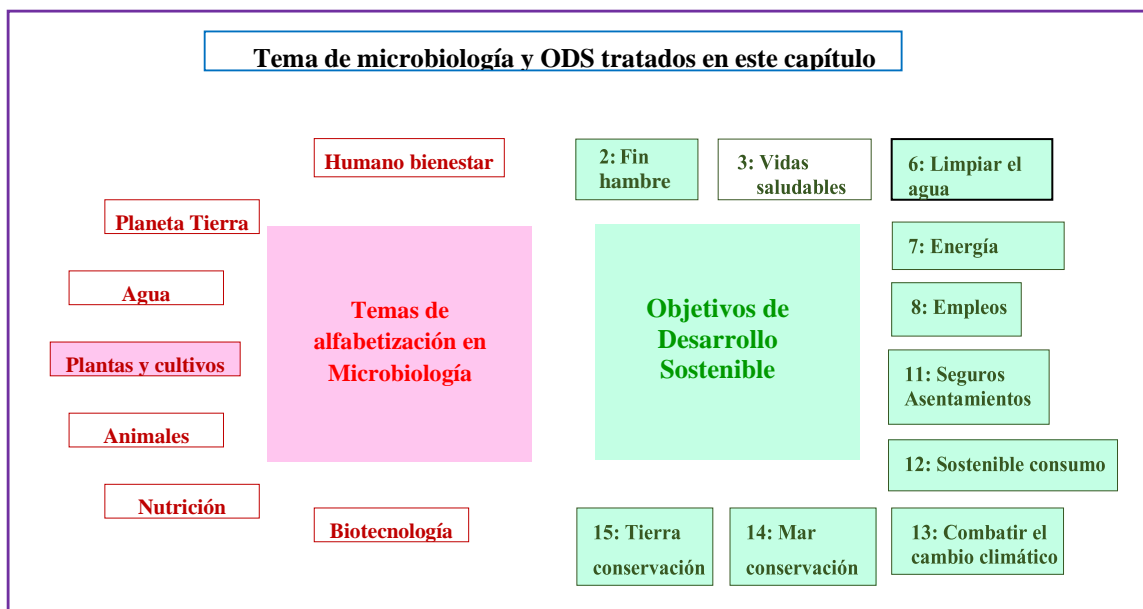
Un subgrupo de estas bacterias fijadoras de nitrógeno llamadas **rizobios** puede formar una **simbiosis** con ciertas plantas, llamadas **leguminosas**, en la que los rizobios fijadores de nitrógeno proporcionan amoníaco a la planta a cambio de una fuente de carbono y energía. En las leguminosas, como los guisantes y las judías, los rizobios infectan las raíces de la planta y crecen en unas estructuras especializadas creadas por la planta llamadas **nódulos**, que se forman como protuberancias en las raíces cuando los rizobios invaden las raíces. Las plantas se aseguran de que el entorno dentro de los nódulos sea ideal para que las bacterias reduzcan el nitrógeno a **amoníaco**, un proceso difícil y que requiere mucha energía. La planta satisface las necesidades de crecimiento y energía de las bacterias aportando carbono procedente de la fotosíntesis; a cambio, los rizobios suministran a la planta fertilizante nitrogenado en forma de **amonio**, que se forma cuando el amoníaco está en el agua. El resultado neto es una simbiosis en la que las leguminosas se benefician porque crecen mejor y el número de rizobios en el suelo aumenta después de que las plantas mueren (o se cosechan). Otros beneficios son:

- *los granos de leguminosas como los guisantes, las lentejas y la soja son ricos en proteínas, por lo que son excelentes como alimento para humanos y animales de granja*
- *el N residual de las raíces, hojas y tallos de las leguminosas se incorpora al suelo*
- *la lixiviación del nitrógeno del suelo al medio ambiente se reduce al mínimo*
- *el mayor crecimiento de las raíces de las leguminosas y de su exudado estimula el crecimiento de diversos microorganismos alrededor de las raíces de las leguminosas, lo que aumenta la fertilidad del suelo.*

Además de la simbiosis entre leguminosas y rizobios, existen otras interacciones simbióticas en las que otras bacterias fijadoras de nitrógeno transfieren amoníaco a las plantas y microorganismos fotosintéticos a cambio de compuestos de carbono que, en última instancia, proceden de la fotosíntesis. Algunas bacterias fijadoras de nitrógeno son incluso capaces de realizar su propia fotosíntesis para producir compuestos de carbono que proporcionan energía para la fijación del nitrógeno y el crecimiento.

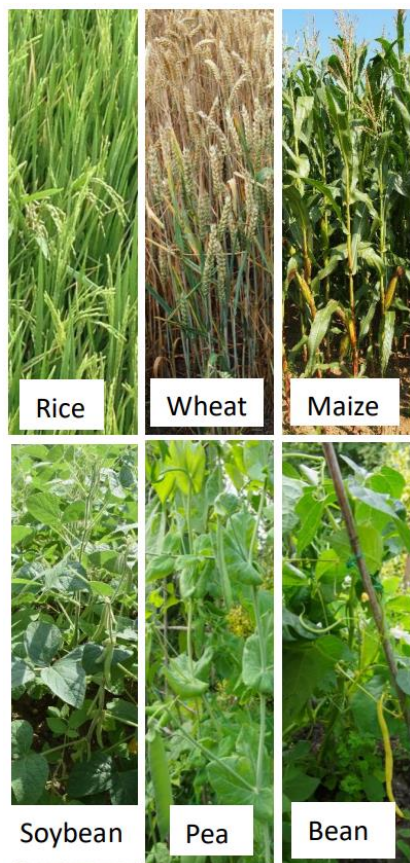
La microbiología: la infección bacteriana de las raíces conduce a un mayor crecimiento de las plantas asociado a la fijación del nitrógeno. La simbiosis rizobio-leguminosa, junto con otras simbiosis fijadoras de nitrógeno y la fijación de nitrógeno por bacterias de vida libre, desempeñan un papel clave en el **ciclo del nitrógeno**, ya que toman el nitrógeno gaseoso de la atmósfera y lo convierten en amoníaco que puede utilizarse para el crecimiento de las plantas.

Cuestiones de sostenibilidad: **la fijación biológica del nitrógeno** aumenta el rendimiento de los cultivos y minimiza la liberación al medio ambiente de nitrógeno reactivo en forma de amoníaco u **óxidos de nitrógeno** que pueden contribuir al calentamiento global, a la **eutrofización** de océanos y lagos o a la proliferación de algas, todo lo cual puede deberse al uso excesivo de fertilizantes químicos nitrogenados. La fijación biológica del nitrógeno también ayuda a producir cereales ricos en proteínas, como guisantes, alubias, soja, lentejas y garbanzos, que son especialmente importantes como alimentos en regiones empobrecidas.



Fijación de Nitrógeno: la microbiología

1. *Las leguminosas y las bacterias fijadoras de nitrógeno que infectan sus raíces han dado forma a las agronómicas desde hace miles de años.* Desde hace más de dos mil años se sabe que si se cultivan plantas en terrenos previamente dedicados al cultivo de leguminosas, el rendimiento de la cosecha del cultivo siguiente mejora notablemente. Esto se descubrió de forma independiente en Asia, donde el arroz se cultivaba después de la soja, en Oriente Medio, donde el trigo o la cebada se cultivaban después de los guisantes o las lentejas, y en América, donde el maíz se cultivaba después (o con) las judías negras. También era bien sabido que la mayoría de las leguminosas producían pequeñas protuberancias en sus raíces y a finales del siglo XIX se reconoció que estas pequeñas protuberancias estaban llenas de bacterias que recibieron el nombre de especies *Rhizobium* (denominadas genéricamente «**rizobios**»). Se demostró que estas bacterias toman el gas nitrógeno (N_2) de la atmósfera y lo convierten en una forma (**amoníaco**, NH_3) que reacciona con el agua para producir amonio, que puede ser utilizado por la planta. Este proceso se denomina “**fijación simbiótica del nitrógeno**” y desempeña un papel importante en el **ciclo global del nitrógeno**, favorece el crecimiento tanto de las leguminosas como de los cultivos posteriores plantados en



los campos donde se habían cultivado leguminosas, ayudando así a establecer una agricultura intensiva.

2. *Se necesitan cepas bacterianas específicas para diferentes leguminosas: el inicio de una industria que produce rizobios para añadir a los campos donde se cultivan leguminosas.* Las ventajas de las legumbres eran tan grandes que se trasladaron de un continente a otro para aumentar la productividad agrícola. Sin embargo, al principio cultivos como la soja no crecían tan bien en América, Australia o Europa como en su hábitat nativo en Asia. Del mismo modo, el trébol o la alfalfa llevados de Europa a Australia no crecían bien. El problema era que, aunque las distintas regiones del mundo tenían sus propias leguminosas con sus propios rizobios nativos en los suelos, estos rizobios nativos no eran capaces de llevar a cabo una fijación eficaz del nitrógeno en las leguminosas introducidas. Este problema se resolvió cuando se cultivaron rizobios aislados de los nódulos de leguminosas cultivadas en sus regiones nativas y, a continuación, se cultivaron en grandes cantidades y se inocularon en el suelo. Rápidamente se hizo evidente que, mientras que un tipo de bacteria rizobiana podía utilizarse para formar nódulos fijadores de nitrógeno en algunos grupos de leguminosas, se necesitaría una bacteria rizobiana diferente para otras leguminosas. Por ejemplo, los rizobios aislados de nódulos de guisantes no formarían una simbiosis con plantas de soja. Así que se estableció una industria de **inóculos** para identificar las cepas de rizobios que inducían una fijación óptima del nitrógeno en diferentes leguminosas. En la actualidad, estos rizobios se cultivan y almacenan de forma que puedan utilizarse como inoculantes del suelo, lo que permite aumentar el rendimiento de los cultivos de leguminosas en suelos que carecían de los rizobios adecuados o tenían pocos.



La planta de guisante de la izquierda se cultivó sin inoculante rizobiano; sus raíces carecen de nódulos y sus hojas han crecido menos y muestran signos de limitación de N. El guisante de la derecha fue inoculado y ha formado unos 100 nódulos fijadores de nitrógeno en las raíces; (dos grupos de nódulos están resaltados en recuadros amarillos) y las hojas han crecido más y parecen más sanas.

3. **La fijación de nitrógeno por los rizobios no sólo beneficia a la planta.** Las semillas de cereales (por ejemplo, de soja, lentejas, judías y guisantes) y las hojas de los cultivos forrajeros (como la alfalfa y el trébol) tienen un alto contenido en proteínas. Por ejemplo, las semillas de soja contienen alrededor de un 40% de proteínas, frente al 10-15% de proteínas de las semillas de maíz o trigo, y estas proteínas son importantes en la nutrición humana y animal. Una ventaja adicional es que los cultivos que crecen en las **rotaciones de cultivos** después de las leguminosas han aumentado.

4. **Los nódulos de las leguminosas proporcionan un entorno ideal para la fijación del nitrógeno.** La microscopía reveló que los nódulos de las leguminosas estaban llenos de rizobios y que la mayoría de estas bacterias se encontraban en realidad dentro de las células vegetales. Estos rizobios fijadores de nitrógeno se han **diferenciado**, aumentando su tamaño, y se denominan bacteroides. *En algunos aspectos, estos bacteroides rizobianos se comportan un poco como orgánulos como las mitocondrias o los cloroplastos, que evolucionaron a partir de bacterias incorporadas en orgánulos hace millones de años. Sin embargo, en lugar de trabajar con los gases oxígeno o dióxido de carbono de la atmósfera (como utilizan las mitocondrias o los cloroplastos, respectivamente), los bacteroides rizobianos trabajan con gas nitrógeno.* El N_2 es relativamente inerte y sólo se ha identificado una enzima capaz de reaccionar con él. Esta enzima se llama nitrogenasa y añade protones y electrones secuencialmente a cada molécula de N_2 , produciendo finalmente dos moléculas de NH_3 (amoníaco) que se liberan en la célula vegetal.

La nitrogenasa es un complejo enzimático muy sensible al oxígeno, que la inactiva. La leguminosa se adapta a esta limitación restringiendo el flujo de oxígeno a los nódulos y produciendo en las células de la planta infectadas por rizobios grandes cantidades de una proteína llamada **leghemoglobina**. Esta proteína es similar a la **hemoglobina** de la sangre y se puede ver un característico color rojo rosado si se corta por la mitad un nódulo fijador de nitrógeno. La leghaemoglobina de los nódulos absorbe el oxígeno libre y luego lo libera de forma que los niveles de oxígeno libre se mantengan lo suficientemente bajos como para no inactivar la nitrogenasa (en esencia, la leghaemoglobina actúa como un tampón de oxígeno). Otra limitación de la nitrogenasa es que requiere una gran cantidad de energía y las plantas proporcionan un suministro constante de compuestos de carbono que las bacterias pueden utilizar para producir energía en forma de **ATP**. Para ello, las bacterias utilizan un **sistema respiratorio** especial con un **citocromo oxidasa** que puede trabajar con los bajísimos niveles de oxígeno liberados en las células de los nódulos por la leghemoglobina.



Un nódulo de guisante cortado por la mitad que muestra el color rojo de la leghaemoglobina producida por la planta y necesaria para la fijación simbiótica del nitrógeno. La raíz está a la izquierda y la punta del nódulo a la derecha.

5. **Tanto las leguminosas como los rizobios se benefician de la simbiosis.** Cada nódulo que se forma en una raíz suele estar lleno de muchas células rizobianas que son el resultado de

una infección iniciada por una única célula bacteriana (es decir, las bacterias de un nódulo suelen ser **clonales**). Un solo nódulo puede contener 10⁸ (100 millones) células rizobianas, todas ellas derivadas de la única bacteria que infectó el nódulo. Incluso si sólo una proporción muy baja de estas células se escapa al suelo, el número de bacterias en el suelo aumenta. Por ejemplo, si sólo el 0,001% (una entre cien mil) de las bacterias de un nódulo se libera al suelo, esto equivale a una célula bacteriana que infectó clonalmente el nódulo, produciendo mil progenies que se liberan al suelo en una temporada de cultivo. Estos rizobios que escapan de los nódulos entran en la población del suelo y tienen el potencial de infectar y nodular las raíces en crecimiento de las leguminosas jóvenes.

El crecimiento bacteriano en los nódulos es apoyado por la planta, que suministra carbono principalmente en forma del ácido orgánico **malato**, que se genera en los nódulos de la raíz a partir de la sacarosa que proviene de la fotosíntesis en las hojas. Este suministro de carbono de la planta depende de que los rizobios proporcionen amoníaco; si los rizobios del nódulo no suministran amoníaco a la legumbre, ésta cierra el nódulo, induciendo una lisis que mata a la mayoría de las bacterias.

6. Los rizobios y las leguminosas tienen varios niveles de sistemas de reconocimiento mutuo que permiten el reconocimiento entre los rizobios y su leguminosa huésped apropiada. Las bacterias rizobias crecen alrededor de las raíces y están muy bien adaptadas para crecer en el suelo inmediatamente adyacente a las raíces de las plantas (la **rizosfera**). Son atraídas por los **exudados de las raíces** -productos alimentarios de la fotosíntesis liberados por las raíces- y pueden crecer en ellos. Además, se adhieren preferentemente a las raíces de las leguminosas gracias a interacciones superficiales específicas entre las proteínas de la pared celular de la planta y la superficie de polisacáridos de los rizobios (cada rizobio tiene polisacáridos superficiales diferentes). Allí pueden detectar compuestos de señalización secretados por las raíces de las leguminosas. Estas sustancias químicas de origen vegetal inducen a los rizobios a producir señales denominadas **factores de nodulación (o Nod)**. Estos factores Nod son reconocidos específicamente por receptores de membrana situados en la superficie de las células radiculares de las leguminosas potencialmente asociadas. El reconocimiento se basa en los distintos grupos químicos que decoran los factores Nod (algo así como un mecanismo de cerradura y llave). Estos factores Nod pueden determinar qué leguminosas pueden ser noduladas por una cepa rizobiana determinada. Así, los factores Nod producidos por una cepa noduladora de guisantes son sutilmente diferentes de los producidos por cepas noduladoras de soja. En la mayoría de las leguminosas, los factores Nod activan vías que conducen al desarrollo de nódulos y de estructuras vegetales especializadas que ayudan a las bacterias a infectar las raíces y entrar en las células de los nódulos. Las proteínas secretadas por los rizobios pueden ayudar en el proceso de reconocimiento y, en algunos casos, pueden incluso evitar la necesidad de factores Nod. Las señales de los factores Nod utilizadas por los rizobios son muy similares a las que emiten algunos hongos endomicorrícicos cuando entran en simbiosis con plantas terrestres. Esta última simbiosis es muy antigua y la evolución más reciente de la simbiosis entre leguminosas y rizobios reutilizó algunos de los componentes de señalización de la simbiosis endomicorrícica.

7. **Otras simbiosis bacterianas fijadoras de nitrógeno.** Los nódulos fijadores de nitrógeno



Imagen de un nódulo inducido por una bacteria Frankia en una raíz de aliso. En el recuadro se muestra un grupo de cinco nódulos en una raíz de guisante para comparar su tamaño.

también se producen como resultado de una simbiosis en la que participan bacterias filamentosas llamadas Frankia y plantas no leguminosas como el aliso, la casuarina, el eleagnus y la datisca. Las plantas implicadas son en su mayoría árboles o arbustos leñosos y estas simbiosis desempeñan un papel global importante en la fijación del nitrógeno, sobre todo en los bosques. Existen grandes similitudes con las simbiosis rizobianas de las leguminosas, pero los nódulos inducidos por Frankia pueden durar varios años y algunos llegan a ser mucho más grandes que los nódulos de las leguminosas.

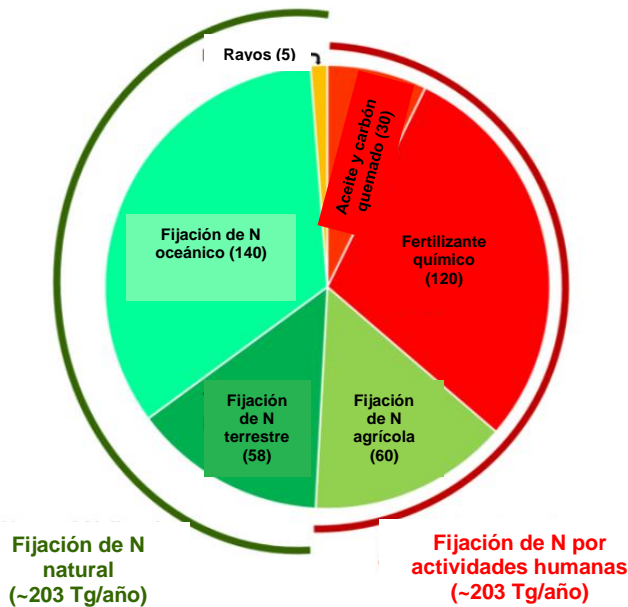
Otras simbiosis se producen con bacterias fotosintéticas fijadoras de nitrógeno llamadas cianobacterias que pueden formar simbiosis fijadoras de nitrógeno. La única simbiosis intracelular conocida entre una cianobacteria y una planta con flor se produce en células especializadas de las glándulas del tallo de la Gunnera. Sin embargo, las cianobacterias pueden formar nódulos fijadores de nitrógeno en cícadras y formar una simbiosis fijadora de nitrógeno con algunos líquenes. Otro ejemplo de simbiosis cianobacteriana es la que se produce con el helecho acuático Azolla, que se cultiva en muchos arrozales; el nitrógeno fijado que se capta durante esta simbiosis se incorpora al suelo, aumentando el rendimiento del arroz hasta en un 50%. Otras simbiosis cianobacterianas fijadoras de nitrógeno se dan ampliamente en el fitoplancton oceánico (incluidos los dinoflagelados y las diatomeas), influyendo en el ciclo biogeoquímico oceánico global del N.

Además de estas simbiosis fijadoras de nitrógeno, hay muchas especies de bacterias que pueden fijar nitrógeno sin estar en simbiosis. Por ejemplo, las cianobacterias que viven en el agua pueden utilizar la fotosíntesis para proporcionar la energía necesaria para la fijación del nitrógeno y producir amoníaco para su propio crecimiento. Además, existen diversas bacterias del suelo fijadoras de nitrógeno que dependen de los exudados radiculares de carbono producidos por las plantas para energizar la fijación de nitrógeno, pero esto es mucho menos eficaz para estimular el crecimiento de las plantas que la fijación simbiótica de nitrógeno.

8. **Papel de la fijación microbiana del nitrógeno en el ciclo global del nitrógeno.** Antes del inicio de la industrialización, se calcula que la fijación bacteriana del nitrógeno capturaba en todo el mundo unos 200 millones de toneladas de nitrógeno al año, de las cuales unas tres cuartas partes procedían de bacterias presentes en los océanos y el resto de las bacterias fijadoras de nitrógeno terrestres. En aquella época, la única otra fuente de generación de N reactivo a partir de N₂ eran los rayos, cuya alta energía producía unos 5 millones de toneladas más de N reactivo (en forma de óxidos de N).

A principios del siglo XXI, la actividad humana había duplicado la cantidad de fijación de nitrógeno y, por tanto, de “nitrógeno reactivo” (formas de N distintas del N₂)

Fijación global actual de N (Tg N fijadas al año: total 413 Tg/año)



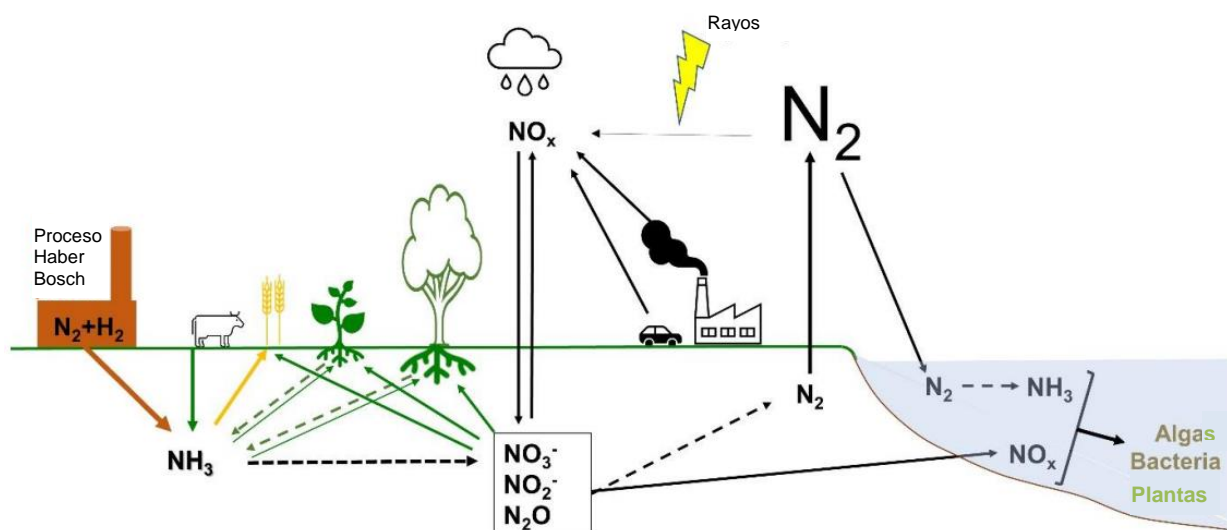
liberado a la biosfera en forma de óxidos de nitrógeno y amoníaco. Esto ocurrió sobre todo gracias a la invención de la producción industrial de amoníaco Haber-Bosch (inventada en 1910); hoy en día este proceso racionalizado utiliza catalizadores que actúan a alta temperatura (unos 500 °C) y presión (unas 200 veces la presión atmosférica). Actualmente produce unos 120 millones de toneladas de nitrógeno fijo al año, la mayor parte del cual se utiliza como abono para las plantas. El N reactivo adicional derivado de la actividad humana procede de la fijación biológica del nitrógeno en la

agricultura (unos 60 millones de toneladas anuales, principalmente de leguminosas cultivadas). La combustión de combustibles fósiles (el carbón y el petróleo contienen nitrógeno procedente de los organismos que los produjeron) añade unos 30 millones de toneladas de **nitrógeno reactivo** a la atmósfera cada año. Esta duplicación de la producción de nitrógeno reactivo por parte de los seres humanos ha aumentado el rendimiento de los cultivos permitiendo que la población humana aumente hasta su nivel actual cercano a los 8.000 millones de personas. Sin la producción industrial de fertilizantes nitrogenados, se estima que la población humana máxima que podría soportar sería de unos 4.000 millones de personas. El aumento de la producción de nitrógeno reactivo ejerce una enorme presión sobre el ciclo global del nitrógeno. Las consecuencias son:

- *Aumento de los niveles de nitrógeno reactivo en la atmósfera, incluido el gas de efecto invernadero N₂O que permanece en la atmósfera unos 100 años.*
- *Los compuestos de nitrógeno reactivo en la atmósfera pueden afectar a los niveles de ozono, aumentar las partículas atmosféricas y degradar la calidad del aire*
- *El aumento de los niveles de N reactivo en los suelos puede provocar una disminución de la biodiversidad terrestre*
- *La lixiviación de nitrógeno reactivo en las capas freáticas afecta a la calidad del agua potable*
- *La escorrentía de nitrógeno reactivo hacia ríos y océanos puede provocar profundos cambios en sus ecosistemas, contribuyendo a la disminución de la biodiversidad e incluso a la **eutrofización** y a la producción de zonas de bajo nivel de oxígeno en las masas de agua, lo que provoca la muerte de animales como los peces.*

Las formas reactivas del nitrógeno en ambientes terrestres, de agua dulce y marinos son utilizadas por bacterias que, pueden interconvertir diferentes formas de nitrógeno reactivo e incluso producir gas N₂ que puede volver a la atmósfera. Sin

embargo, este equilibrio está actualmente desequilibrado, principalmente debido a las grandes cantidades de fertilizantes amoniacales que se producen y se añaden a los suelos.



El ciclo del nitrógeno. La atmósfera es en su mayor parte gas nitrógeno (el N_2 constituye el 78% de los gases), que no puede ser utilizado en esa forma por ningún animal, planta u hongo. Las bacterias fijadoras de nitrógeno pueden convertir el N_2 en amoníaco NH_3 , que puede entrar en el ciclo del nitrógeno. Estas bacterias productoras de amoníaco pueden crecer en simbiosis fijadoras de nitrógeno con plantas (por ejemplo, leguminosas) y hongos (por ejemplo, líquenes) o por bacterias en el suelo. En lagos y océanos, las cianobacterias fotosintéticas también pueden fijar el nitrógeno convirtiendo el N_2 en NH_3 , que puede ser utilizado por el fitoplancton, las algas, las plantas acuáticas y otras bacterias. Las excreciones de los animales son ricas en nitrógeno que las bacterias pueden convertir en amoníaco. Además, cuando mueren animales, plantas o microorganismos, el nitrógeno que contienen puede ser convertido en amoníaco por las bacterias del suelo. Todo el amoníaco producido puede ser convertido en nitrito y nitrato por otras bacterias. La mayor parte del nitrato y del amonio pueden ser utilizados de nuevo por las plantas, pero algunos de los óxidos de nitrógeno pueden ser convertidos en gas N_2 por las bacterias y este N_2 puede volver a la atmósfera completando el ciclo del nitrógeno. El nitrógeno reactivo también puede ser liberado por la combustión de combustibles fósiles y por los rayos, añadiéndose al ciclo del nitrógeno. Las flechas rotas representan las interconversiones microbianas de diferentes formas de nitrógeno.

9. *¿Cuáles son las ventajas y los inconvenientes del cultivo de leguminosas en la agricultura? ¿Por qué no se cultivan más leguminosas?* Una de las ventajas de las leguminosas es que los agricultores no tienen que pagar por los **fertilizantes nitrogenados** y, sorprendentemente (si se compara con la fijación industrial del nitrógeno), las bacterias de sus nódulos son capaces de fijar el nitrógeno a la temperatura del suelo. Debido a los elevados costes energéticos de la producción industrial de abonos nitrogenados, su coste suele estar vinculado al del petróleo. Este factor de coste es especialmente importante en algunas regiones económicamente desfavorecidas (por ejemplo, partes de Asia y África), sobre todo allí donde los elevados costes de distribución también pueden añadirse al precio de aplicación del fertilizante nitrogenado. Una ventaja medioambiental de la fijación simbiótica del nitrógeno es que, durante el crecimiento y la senescencia de las leguminosas, el N reactivo se libera lentamente al suelo, por lo que la contaminación asociada al nitrógeno es menor. Sin embargo, cuando las leguminosas son consumidas por humanos o animales, la mayor parte del nitrógeno se excreta en la orina o las heces,

y este nitrógeno reactivo entra entonces en el ecosistema. Los granos de leguminosas suelen tener un bajo contenido en los aminoácidos azufrados metionina y cisteína, esenciales para la nutrición humana, pero esto puede complementarse con la disponibilidad de estos aminoácidos en los granos de cereales, los huevos y la carne.

Dado su alto contenido en proteínas y sus ventajas medioambientales, ¿por qué no se cultivan más leguminosas? La media de la UE es que alrededor del 3,3% de la tierra cultivable se destina al cultivo de leguminosas; esta cifra contrasta con el 20% de tierra cultivable que se destina a leguminosas en algunas otras zonas. Uno de los problemas es que el rendimiento de las leguminosas por unidad de superficie suele ser inferior a la mitad del obtenido con los cereales. Además, las leguminosas son más sensibles a las enfermedades, a las temperaturas extremas y a la sequía. Estos factores hacen que requieran una gestión hábil y que sea más difícil obtener rendimientos elevados reproducibles de las leguminosas. Parte del problema se debe a que se han dedicado menos esfuerzos a la mejora genética de las leguminosas. Sin embargo, la soja se ha cultivado mucho y se utiliza ampliamente porque produce rendimientos relativamente altos y sus semillas son ricas en proteínas y aceite. Necesitan un periodo vegetativo relativamente cálido y son un buen cultivo comercial por el alto valor tanto del aceite de soja como del residuo de soja rico en proteínas que se utiliza ampliamente para producir piensos. Desgraciadamente, en varias partes del mundo, el alto valor comercial de la soja ha provocado la tala de bosques tropicales para plantar la soja que se utiliza para producir alimentos para animales de granja destinados al consumo humano. El impacto medioambiental sería mucho menor si los humanos comieran más legumbres y menos carne.

Relevancia para los Objetivos de Desarrollo Sostenible y los Grandes Desafíos

Las simbiosis entre plantas y bacterias fijadoras de nitrógeno están relacionadas con varios ODS (los aspectos microbianos aparecen *en cursiva*), *incluido*:

- **Objetivo 2. Acabar con el hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible** (*acabar con el hambre y la malnutrición, aumentar la productividad agrícola*) (*acceso a alimentos nutritivos, acabar con el hambre y la malnutrición, aumentar la productividad de los pequeños agricultores, producción sostenible de alimentos, agricultura resiliente, diversidad genética en la producción de alimentos*). El uso de legumbres (con los inoculantes rizobianos adecuados cuando sea necesario) en las prácticas agrícolas reduce la necesidad de añadir fertilizantes nitrogenados, proporciona alimentos ricos en proteínas y puede estimular el crecimiento de otros cultivos que crecen junto con las legumbres o después de ellas. Esto, junto con otras simbiosis fijadoras de nitrógeno como el cultivo de arroz junto con la simbiosis Azolla-hierba y el uso de otras simbiosis fijadoras de nitrógeno, puede contribuir a una agricultura sostenible y resistente con cultivos genéticamente diversos.
- **Objetivo 6. Garantizar la disponibilidad y la gestión sostenible del agua y el saneamiento para todos** (*mejorar la calidad del agua, reducir la contaminación, proteger los ecosistemas relacionados con el agua*). Un mayor uso de la fijación simbiótica del nitrógeno en la agricultura reduce la contaminación de las aguas subterráneas con fertilizantes nitrogenados que son convertidos por las bacterias del suelo en nitratos y nitritos que disminuyen la calidad

del agua.

- **Objetivo 7. Garantizar el acceso a una energía asequible, fiable, sostenible y moderna para todos** (*garantizar el acceso a una energía limpia, renovable y sostenible*). La sostenibilidad requiere un uso cada vez mayor de las energías renovables y el cultivo de plantas fijadoras de nitrógeno puede contribuir a ello aumentando la fertilidad del suelo para el posterior crecimiento de cultivos de biomasa/bioenergía.

- **Objetivo 8. Promover el crecimiento económico sostenido, inclusivo y sostenible, el empleo pleno y productivo y el trabajo decente para todos** (*promover el crecimiento económico, la productividad y la innovación, la empresa y la creación de empleo*). El cultivo de leguminosas fijadoras de nitrógeno y la inoculación de los rizobios adecuados se ha llevado a cabo por pequeños agricultores y en regiones pobres y puede proporcionar cultivos comerciales como las judías. Esto fomenta el crecimiento económico y la productividad locales. A menudo son las mujeres emprendedoras y los pequeños agricultores quienes impulsan estas innovaciones que estimulan el empleo.

- **Objetivo 10. Reducir la desigualdad de ingresos dentro de los países y entre ellos** (*reducir las desigualdades de ingresos y promover la inclusión económica*). La venta local de legumbres como judías, garbanzos, caupís, cacahuets, gandules y soja cultivadas por pequeños agricultores puede ayudar a integrar a estos agricultores en la economía monetaria de las regiones pobres. El uso de inoculantes rizobianos adecuados según las necesidades puede aumentar el rendimiento y los beneficios.

- **Objetivo 12. Garantizar modelos de consumo y producción sostenibles** (*lograr prácticas de producción y uso/consumo sostenibles, reducir la producción de residuos/emisión de contaminantes al medio ambiente, alcanzar ciclos de vida de residuo cero, informar a la población sobre prácticas de desarrollo sostenible*). El crecimiento de cultivos fijadores de nitrógeno con inoculantes rizobianos adecuados reduce el uso de fertilizantes nitrogenados y es fundamental para una producción agrícola sostenible con una liberación mínima de nitrógeno reactivo al medio ambiente y, por tanto, una menor contaminación. Además de que los granos de las leguminosas aportan un buen valor nutritivo, los residuos de los cultivos son una valiosa fuente de abono cuando se incorporan al suelo. Existen programas activos para informar a los agricultores sobre cómo aplicar estas prácticas de desarrollo sostenible, pero es necesario ampliarlos a escala local.

- **Objetivo 13. Tomar medidas urgentes para combatir el cambio climático y sus repercusiones** (*reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, mitigar las consecuencias del calentamiento global, desarrollar sistemas de alerta temprana de las consecuencias del calentamiento global, mejorar la educación sobre la producción de gases de efecto invernadero y el calentamiento global*). El amoníaco contribuye a la formación de partículas en la atmósfera provocando una disminución de la visibilidad y la posterior deposición de nitrógeno en ecosistemas sensibles. Los microbios del suelo y el agua reaccionan fácilmente con el amoníaco para producir óxidos de nitrógeno (óxido nítrico, NO; ácido nitroso, HONO; óxido nitroso, N₂O; nitrito, NO₂; y nitrato, NO₃). De ellos, el N₂O es un potente gas de efecto invernadero (unas 260-300 veces más potente que el CO₂), que permanece en la atmósfera unos 100 años. Reducir la cantidad de abono amoniacal utilizado en los cultivos disminuye la producción de los óxidos de nitrógeno. Otra

fuerza de éstos procede de la excreción de N reactivo por los animales, y la sustitución de los alimentos cárnicos y lácteos por proteínas de leguminosas disminuiría la liberación de N reactivo y, por tanto, los niveles de NO₂ atmosférico.

- **Objetivo 14. Conservar y utilizar de forma sostenible los océanos, mares y recursos marinos para el desarrollo sostenible** (*reducir la contaminación de los sistemas marinos por nutrientes/residuos agrícolas, desarrollar medidas de mitigación de la acidificación, potenciar el uso sostenible de los océanos y sus recursos*). El N reactivo de los fertilizantes llega a los sistemas marinos, cambiando sustancialmente su ecología, y el uso de leguminosas puede reducirlo.

- **Objetivo 15. Proteger, restaurar y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar de forma sostenible los bosques, luchar contra la desertificación, y detener e invertir la degradación del suelo y detener la pérdida de biodiversidad.** (*Conservar y restaurar los ecosistemas terrestres y de agua dulce, restaurar los bosques degradados, restaurar las tierras degradadas, proteger la biodiversidad y los hábitats naturales*). Las plantas como las leguminosas noduladas por rizobios y las plantas noduladas por actinobacterias fijadoras de nitrógeno suelen ser colonizadoras primarias de tierras pobres en nutrientes debido a su capacidad para fijar el nitrógeno atmosférico. Por lo tanto, pueden utilizarse para recolonizar y fertilizar tierras degradadas. Desempeñan un papel fundamental en los ciclos del nitrógeno de los bosques, contribuyendo al mantenimiento de la biodiversidad. El crecimiento de leguminosas fijadoras de nitrógeno ayuda a preservar los ecosistemas de agua dulce al reducir la contaminación causada por la adición de fertilizantes nitrogenados.

Implicaciones potenciales para las decisiones

1. *Individual*

a. Evaluar si leguminosas como guisantes, alubias, garbanzos, lentejas, soja, altramuces y cacahuets pueden desempeñar un papel más importante en las dietas, sustituyendo potencialmente algunas de las proteínas de origen animal presentes actualmente en las dietas.

b. Considerar el uso en las dietas de legumbres procesadas como el tofu, la leche de soja, la mantequilla de cacahuete y los productos proteínicos vegetales a base de legumbres.

c. Pensar en el cultivo de legumbres en huertos o parcelas y en las ventajas potenciales del co-cultivo de legumbres fijadoras de nitrógeno con otras verduras (como el maíz con las judías, la coliflor con los guisantes, las habas con las patatas).

d. Aumentar el consumo de verduras, incluidas las legumbres, en la dieta es una importante fuente de alimento para las bacterias beneficiosas del intestino humano y aumentará la diversidad y la salud de la microbiota intestinal humana.

e. Beneficios no microbianos: mayor variedad en la dieta, aumento potencial de fibra que ayuda al sistema digestivo.

2. *Políticas comunitarias*

a. Promover la restauración de praderas de flores silvestres, ricas en leguminosas autóctonas.

b. Promover una mayor disponibilidad de parcelas para el cultivo de frutas y hortalizas y leguminosas asociadas.

c. Parámetros no microbianos: Compromiso de las escuelas en la replantación. Concienciación de los beneficios de la integración de la plantación diversa y la restauración de los ecosistemas naturales, así como de las repercusiones positivas en la diversidad de insectos, aves y animales.

3. *Políticas nacionales relacionadas con ser dueño de un perro*

a. Subvenciones agrícolas relacionadas con la restauración de prados autóctonos y la plantación diversa en los márgenes de los campos.

b. Ayudas a la restauración de bosques que contengan árboles como la acacia negra, la mimosa, el aliso, el colirrojo, el olivo de otoño, la acacia y el mezquite que entren en simbiosis fijadoras de nitrógeno con bacterias.

c. Disminución de la contaminación ambiental relacionada con el menor uso de fertilizantes nitrogenados.

d. Disminución de la liberación de amoníaco y óxido nitroso (N₂O) que contribuyen a la contaminación atmosférica.

e. Fomento del cultivo de leguminosas con un potencial agronómico mejorado, como la capacidad de mantenerse altas en los campos, la mejora de la cosecha y la mejora de la fijación del nitrógeno.

f. *Parámetros no microbianos: mejora de la diversidad de la fauna. Considerar si la modificación genética de las leguminosas podría mejorar su utilidad.*

Participación de los alumnos

1. **Debate en clase sobre las simbiosis fijadoras de nitrógeno:** ¿qué leguminosas conocen y para qué se utilizan? ¿Saben distinguir las leguminosas de grano y las leguminosas forrajeras?
2. **Concienciación de los alumnos como partes interesadas**
 - a. ¿Qué legumbres consume habitualmente? ¿Qué otras legumbres que no comes actualmente sería interesante incluir en tu dieta? ¿Se te ocurren alimentos de otras partes del mundo que incluyan legumbres y que tú no comes o comes muy poco?
 - b. ¿Puedes sugerir diferentes menús que incluyan legumbres como fuente principal de proteínas alimentarias?
 - c. ¿Qué legumbres alimentarias se cultivan en tu entorno local?
 - d. ¿Qué leguminosas de grano se cultivan para alimentar a los animales? ¿Tiene sentido desde el punto de vista medioambiental cultivar grandes extensiones de leguminosas destinadas específicamente a la alimentación animal?
 - e. ¿Qué leguminosas forrajeras se utilizan habitualmente para alimentar a los animales y en qué forma (pasto, heno, ensilado)?
 - f. ¿Qué leguminosas no alimentarias crecen en su entorno local?
 - g. ¿Qué arbustos y árboles conoces que formen simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno en tu localidad? ¿En qué tipo de ambientes se encuentran? ¿Puede pensar en algo que se pueda hacer para reducir las consecuencias negativas, especialmente en la cadena de suministro de alimentos?
3. **Ejercicios**
 - a. La mayoría de las leguminosas tienen pequeños nódulos en sus raíces. Estos nódulos pueden tener el tamaño de la cabeza de una cerilla y suelen ser más pequeños en las raíces de las leguminosas pequeñas. ¿Puedes desenterrar algunas legumbres y examinar los nódulos? Intenta cortar un nódulo por la mitad y comprueba si puedes ver el color rosa de la leghaemoglobina producida por la planta en su interior.
 - b. ¿Cómo reconocerías una legumbre? ¿Qué tiene de particular la forma de la flor? Después de observar esta forma, ¿hay otras plantas que no hayas reconocido como leguminosas?
 - c. Intenta plantar algunas semillas de leguminosas en un jardín y observa cómo crecen, a la vez que observas las leguminosas que ya están creciendo. ¿Qué problemas plantea su cultivo? Puede que las babosas y los caracoles las adoren. Algunas leguminosas crecen un poco desgarradas y necesitan ayuda, porque muchas utilizan sus zarcillos para trepar.
 - d. ¿Cuáles son los retos y las oportunidades de los cultivos con simbiosis fijadoras de nitrógeno en relación con la vida sostenible?

La base de evidencia, lecturas complementarias y materiales didácticos

Wagner, S. C. (2011) Biological Nitrogen Fixation. *Nature Education Knowledge*, 3(10),15
<https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/biological-nitrogen-fixation-23570419/>

Nitrogen Fixation. *Wikipedia*, https://en.wikipedia.org/wiki/Nitrogen_fixation Aczel. M (2019) What Is the Nitrogen Cycle and Why Is It Key to Life? *Front. Young Minds*. 7(41)
<https://kids.frontiersin.org/articles/10.3389/frym.2019.00041>

Zaleski A (2021). The nitrogen emergency: How to fix our forgotten environmental crisis. *New Scientist* 15 May 2021 pp 41-45 <https://www.newscientist.com/article/mg25033340-800-thenitrogen-emergency-how-to-fix-our-forgotten-environmental-crisis/>

Animaciones de dibujos animados que explican la fijación del nitrógeno y el ciclo del nitrógeno

<https://www.youtube.com/watch?v=ZaFVfHftzpl>

<https://www.youtube.com/watch?v=HOpRT8BRGtK>

<https://www.youtube.com/watch?v=tCrgTV20BD4>

<https://www.youtube.com/watch?v=tK0XZKcpCaQ>

Glosario

amoníaco: la forma reducida del nitrógeno (NH_3) que se interconvierte con el amonio (NH_4^+) en el agua.

ATP: trifosfato de adenosina, un compuesto de alta energía que puede generarse por la oxidación de compuestos a través de la cadena respiratoria. Está presente en todas las formas de vida y proporciona la energía necesaria para impulsar muchos procesos en las células vivas.

Azolla: pequeño helecho acuático de rápido crecimiento que forma una simbiosis con cianobacterias fijadoras de nitrógeno. Se cultiva junto con el arroz porque la alfombra que forma impide el crecimiento de malas hierbas y cuando muere libera nitrógeno que favorece el crecimiento del arroz.

Bacteroides: formas diferenciadas de rizobios que pueden fijar nitrógeno dentro de las células vegetales.

Fijación biológica del nitrógeno: proceso enzimático de reducción de una molécula de N_2 a dos moléculas de amoníaco (NH_3).

Clorofila: pigmento necesario para la fotosíntesis, por lo que es muy abundante en todo el mundo. Cada molécula de clorofila contiene cuatro átomos de N.

Cloroplasto: estructura encerrada en una membrana dentro de las células vegetales que realiza la fotosíntesis. Inicialmente evolucionaron hace millones de años por la incorporación de una bacteria fotosintética a una célula.

Clonal: población derivada de un único individuo.

Residuos de cultivos: las partes de las plantas que quedan después de la cosecha. A menudo se incorporan de nuevo al suelo para devolverle sus nutrientes.

Rotación de cultivos: el crecimiento secuencial de diferentes cultivos en la agricultura. Se realiza para evitar el agotamiento de los nutrientes del suelo y la acumulación de organismos patógenos.

Cianobacterias: filo de bacterias que obtienen su energía de la fotosíntesis. Algunas pueden fijar el nitrógeno.

Cícadas: antiguo grupo de plantas vasculares distinto de las plantas con flores

Citocromo oxidasa (en rizobios): última enzima del sistema respiratorio que dona electrones al oxígeno. Los bacteroides fijadores de nitrógeno tienen una citocromo oxidasa especial con una afinidad muy alta por el oxígeno.

Diferenciado: se produce cuando un organismo pasa de un tipo a otra forma

Hongos endomicorrícicos: hongos que crecen en simbiosis con muchas especies vegetales (más del 80%), invaden las células de las raíces de las plantas y transfieren nutrientes como el fosfato y el nitrato del suelo a las células vegetales.

Eutrofización: enriquecimiento de una masa de agua con minerales y nutrientes; puede dar lugar a un mayor crecimiento de algas que, a su vez, pueden agotar los niveles de oxígeno del agua.

Filamentosos: describe tipos de microorganismos en los que las células crecen unidas de extremo a extremo dando lugar a largas cadenas de células microbianas.

Frankia: género de bacterias que forman simbiosis fijadoras de nitrógeno con algunas plantas no leguminosas. A diferencia de muchas bacterias, crecen en forma de filamentos continuos, y éstos crecen desde el suelo hasta las células radiculares.

Oxígeno libre: moléculas de oxígeno que no están unidas (por ejemplo, a la hemoglobina) y que, por tanto, pueden reaccionar libremente.

Proceso Haber Bosch: proceso químico a escala industrial que utiliza altas presiones y temperaturas para catalizar la reducción de N_2 por hidrógeno y formar amoníaco (NH_3).

Hemoglobina: proteína de las células sanguíneas que contiene un pigmento rojo llamado hemo que se une al oxígeno. Transporta oxígeno por todo el cuerpo y permite a las mitocondrias producir energía a partir de la respiración.

Inóculo/inoculante: microorganismos como los rizobios que se añaden a las plantas para mejorar su crecimiento.

Leguminosas: plantas de la familia *Fabaceae*, muchas de las cuales interactúan con los rizobios para facilitar la fijación biológica del nitrógeno.

Leghemoglobina: proteína hemo roja fijadora de oxígeno que se encuentra en abundancia en los nódulos de las leguminosas fijadoras de nitrógeno; favorece la fijación de nitrógeno

actuando como tampón de oxígeno al fijar el oxígeno libre en las células de los nódulos y liberarlo en una concentración lo suficientemente baja como para evitar la desnaturalización de la nitrogenasa.

Líquenes: organismo compuesto formado por un alga verde fotosintética o una cianobacteria en relación simbiótica con un hongo.

Malato: intermediario bioquímico en la degradación de los azúcares.

Mitocondrias: estructuras encerradas en membranas en cuyo interior el oxígeno se reduce a agua, lo que da lugar a la producción de energía. Su origen se remonta a la incorporación de una bacteria a una célula.

Nódulo (nódulo radicular): estructura fabricada por la planta que contiene bacterias fijadoras de nitrógeno, normalmente iniciada en raíces específicas de la planta por infección con bacterias rizobias o Frankia.

Nitrogenasa: complejo enzimático que reduce el N_2 a amoníaco.

Ciclo del nitrógeno: La conversión del gas N_2 en nitrógeno reactivo (normalmente como amonio o nitrato) que puede ser absorbido por plantas o microorganismos donde es asimilado en proteínas y otros compuestos orgánicos que pueden ser utilizados por animales y humanos. Tras su excreción o muerte, estos compuestos son degradados por microorganismos en el suelo o el agua, produciendo nitrógeno reactivo que puede ser absorbido por plantas y microbios, o produciendo gas N_2 que escapa a la atmósfera completando el ciclo.

Fijación del nitrógeno: El proceso de romper el triple enlace del gas N_2 formando formas reactivas de nitrógeno que pueden entrar en el ciclo del nitrógeno. Esto puede hacerse biológicamente por bacterias fijadoras de nitrógeno, o químicamente por el proceso Haber Bosch o puede hacerse por rayos.

Abono nitrogenado: Abonos ricos en nitrógeno; pueden incluir compuestos inorgánicos como el amonio, el nitrato y la urea. Los abonos orgánicos ricos en nitrógeno incluyen el estiércol de granja y otros materiales como huesos, pezuñas y cuernos que contienen nitrógeno que se libera lentamente a las plantas por degradación microbiana.

Factores Nod (nodulación): Moléculas de señalización producidas por los rizobios en respuesta a las sustancias químicas secretadas por las raíces de las leguminosas. Los factores Nod desempeñan un papel clave en la infección rizobiana de las raíces de las leguminosas y en el inicio del desarrollo de los nódulos.

Organelos: estructuras subcelulares delimitadas por membranas. Entre ellas se encuentran las mitocondrias y los plastidios, que evolucionaron hace millones de años a partir de bacterias incorporadas a células más grandes.

Óxidos de nitrógeno: formas oxidadas del nitrógeno, como N_2O (óxido nitroso), NO (óxido nítrico), NO_2^- (nitrito) y NO_3^- (nitrato).

Fitoplancton: componente fotosintético del plancton marino que se alimenta por sí mismo.

Nitrógeno reactivo: Formas de nitrógeno en su forma reducida amoníaco (NH_3) o en sus diversos óxidos como N_2O , NO , NO_2 , NO_3 o HONO . Todos ellos son mucho más reactivos que el nitrógeno gaseoso (N_2).

Sistema respiratorio (en rizobios): una serie de reacciones redox ligadas a la membrana que transfieren electrones por un gradiente electroquímico al oxígeno y producen energía (en forma de ATP) que puede utilizarse en muchas reacciones.

Rizosfera: región del suelo muy próxima a las raíces de las plantas.

Rizobios: bacterias del suelo que pueden infectar a las leguminosas y formar nódulos fijadores de nitrógeno. Existen varios géneros, como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Ensifer* (*Sinorhizobium*) y *Paraburkholderia*, todos los cuales contienen diferentes especies que nodulan preferentemente leguminosas específicas.

Superficie de polisacáridos rizobianos: capa externa de la pared celular que rodea a los rizobios.

Exudados radiculares: moléculas orgánicas como polisacáridos, proteínas y metabolitos liberados por las raíces de las plantas o por la lisis de las células radiculares de las plantas durante el crecimiento normal de las raíces.

Compuestos de señalización: compuestos bioquímicos liberados por un tipo de célula y reconocidos por otra célula, induciendo una respuesta.

Simbiosis: interacción muy estrecha entre dos organismos diferentes que crecen juntos.