

MICROBIOLOGÍA

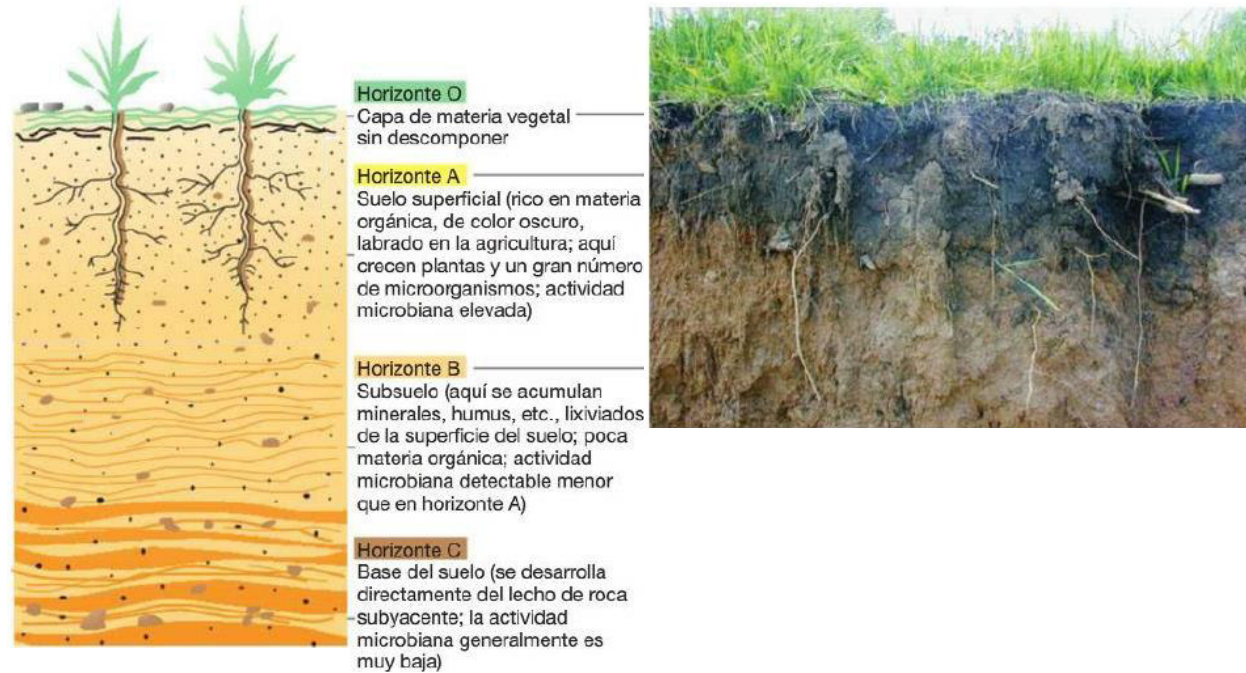
UNIDAD XIV MICROBIOLOGÍA DEL SUELO

Características generales. El suelo como hábitat: Factores que modifican la actividad microbiana: materia orgánica, humedad, temperatura, reacción del suelo, los nutrientes inorgánicos. Rizosfera. Simbiosis entre plantas y microorganismos. Rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPR); rizobacterias biocontroladoras de organismos patógenos de plantas (PGPB). Asociación *Rhizobium*-leguminosas. Proceso de nodulación. Nódulos indeterminados y determinados. Asimilación y destino del N_2 fijado en los nódulos simbióticos. Solubilización de fosfatos. Producción de sideróforos, compuestos reguladores del crecimiento vegetal y fitohormonas, producción de antibióticos. Género *Azospirillum* como modelo de rizobacteria PGPR. Inoculación en agricultura: Técnicas de inoculación de plantas leguminosas. Calidad del inoculante. Humus. Evaluación de la biomasa microbiana. Los Microorganismos y los Ciclos Biogeoquímicos. El ciclo del carbono: transformaciones en ambientes óxicos y anóxicos. Metanogénesis y acetogénesis. Metanotrofia. Mineralización de nitrógeno orgánico. Nitrificación. Ciclo del azufre. Patógenos de plantas.

SUELO



Es el material externo suelto de la superficie de la Tierra, una capa diferente del lecho de roca subyacente



Los suelos se pueden clasificar en 2 grandes grupos

MINERALES

ORGÁNICOS

Erosión de la roca y otros materiales inorgánicos

Sedimentación en turberas y ciénagas

COMPOSICIÓN DEL SUELO



Presentan al menos 4 componentes:

- 1) Material mineral inorgánico (40% del volumen del suelo).
- 2) Materia orgánica (5%).
- 3) Aire y agua (50%).
- 4) Organismos vivos (microorganismos y macroorganismos \approx 5%).

Tienen partículas de diferentes tamaños

Arena: 0,1 a 2 mm de diámetro.



Limo: entre 0,002 y 0,1 mm de diámetro.

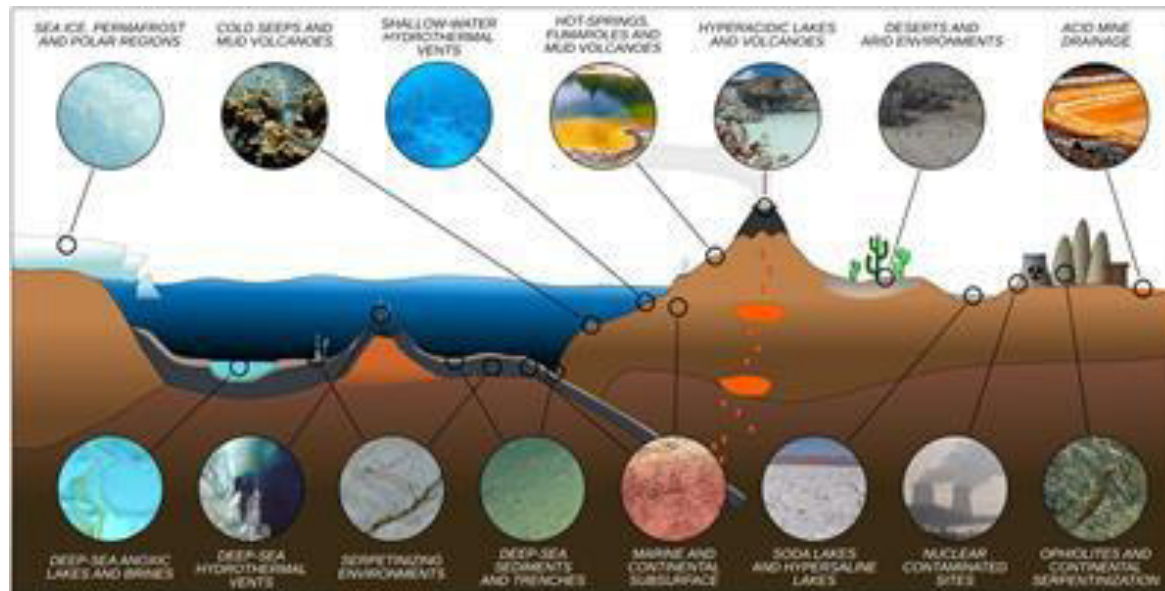


Arcilla: \leq 0,002 mm de diámetro.



DIVERSIDAD MICROBIANA Y EL SURGIMIENTO DE LA MICROBIOLOGÍA GENERAL

- ❖ Los microorganismos están presentes en todos los lugares de la Tierra que sean capaces de mantener la vida.
- ❖ Estos hábitats incluyen lugares que nos son familiares, como el suelo, el agua, los animales o las plantas, así como prácticamente cualquier estructura hecha por el hombre.
- ❖ A medida que la microbiología progresó, el enfoque inicial de esta ciencia sobre aspectos médicos se amplió hasta incluir estudios sobre la diversidad microbiana en el suelo y en las aguas y abarcar los procesos metabólicos que los microorganismos llevan a cabo en estos hábitats.
- ❖ Esto supuso el comienzo de la microbiología general, que es un término que incluye principalmente los aspectos NO MÉDICOS de la microbiología.
- ❖ En esta época destacan 2 figuras importantes, el holandés Martinus Beijerinck y el ruso Sergei Winogradski.

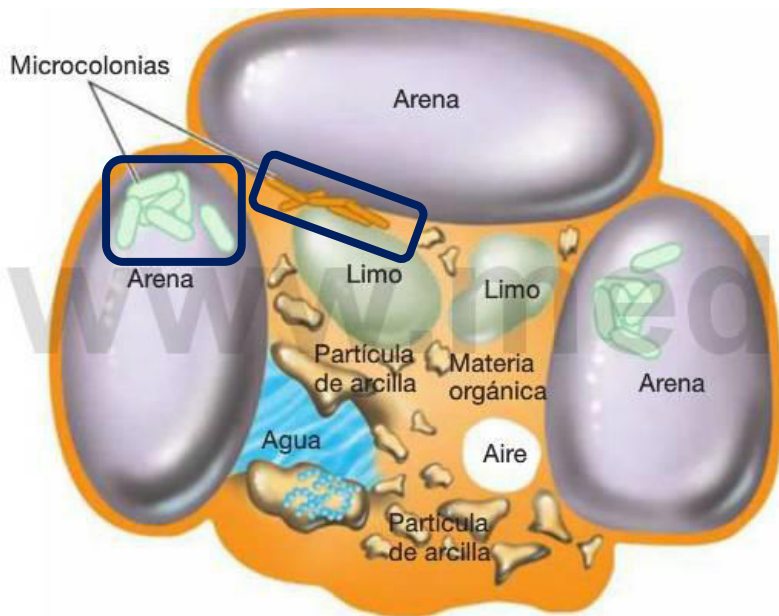


EL SUELO COMO HÁBITAT MICROBIANO

- ❖ El crecimiento más importante se desarrolla en las superficies de las partículas del suelo, normalmente con la rizosfera.
- ❖ Incluso un pequeño agregado del suelo puede contener muchos microambientes diferentes.
- ❖ Uno de los factores principales que alteran la actividad microbiana en el suelo es la disponibilidad del agua.

El agua permanece en el suelo de 2 maneras:

1. Por adsorción en las superficies
2. Como agua libre en capas finas o películas entre las partículas del suelo.



En un hábitat microbiano del suelo muy pocos microorganismos están libres en la disolución del suelo, la mayor parte de ellos residen en microcolonias adheridas a las partículas de suelo.

Los estudios sobre microbiología del suelo aportaron descubrimientos como los ATB y otros compuestos importantes.

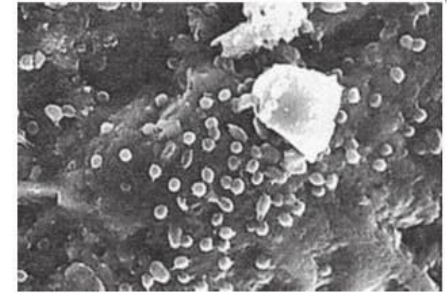
MICROORGANISMOS SOBRE LA SUPERFICIE DE PARTÍCULAS DEL SUELO



En los suelos bien drenados, el aire penetra fácilmente y la concentración de O_2 de la solución del suelo puede ser elevada.

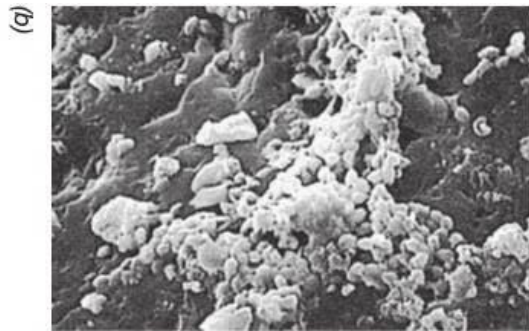
Sin embargo, en los suelos encharcados, el único O_2 presente es el disuelto en el agua, que se consume rápidamente por la microbiota residente.

Por lo que estos suelos se vuelven ANÓXICOS.



T. R. G. Gray

Microcolonia de cocobacilos

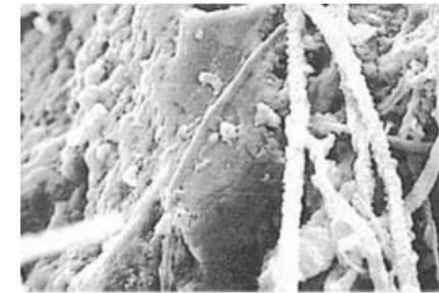


T. R. G. Gray

Esporas de actinomicetos

La mayor parte de la actividad microbiana se encuentra en las capas de la superficie ricas en materia orgánica, especialmente en la rizosfera y sus alrededores.

La cantidad de los microorganismos del suelo y su actividad dependen en gran medida del tipo de nutrientes presentes y su abundancia. A menudo, el nutriente limitante en los suelos no es el C sino los nutrientes inorgánicos como el P y el N, componentes clave de varias clases de macromoléculas.

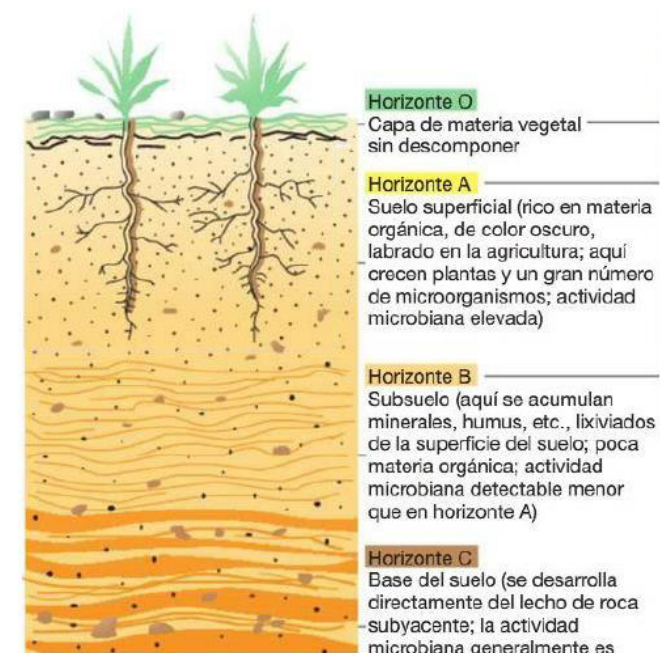
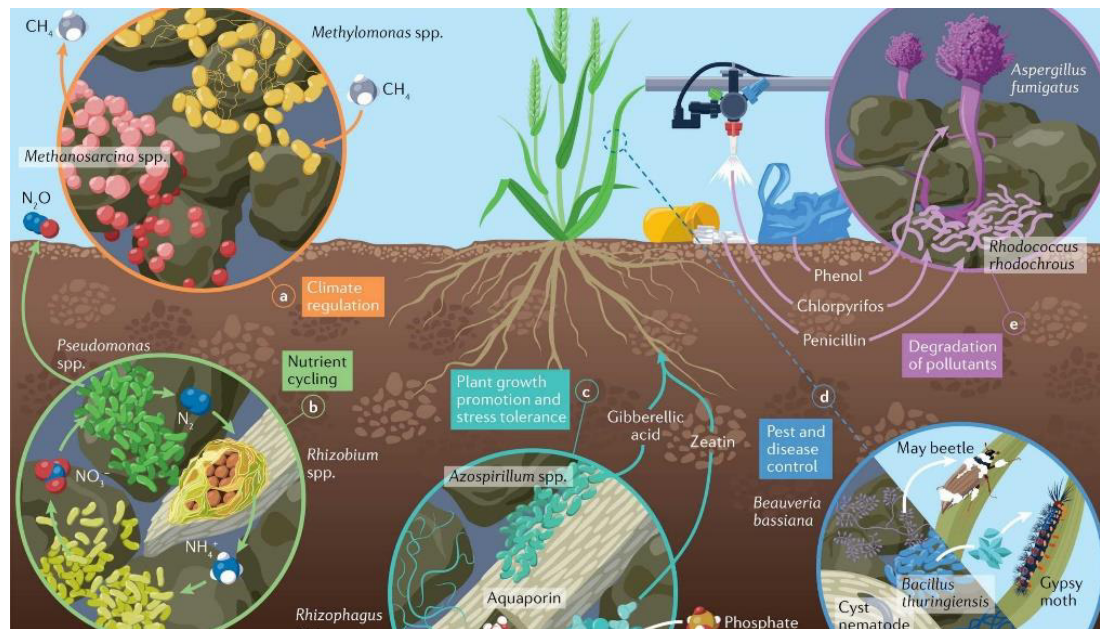


T. R. G. Gray

Hifas fúngicas

MICROBIOLOGÍA DE LA SUBSUPERFICIE PROFUNDA

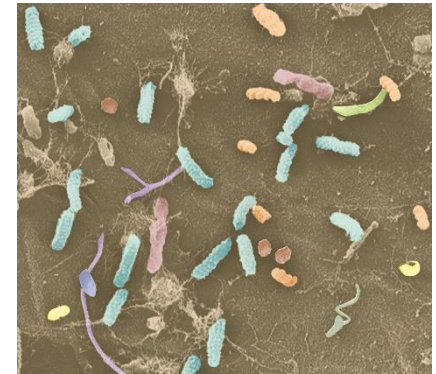
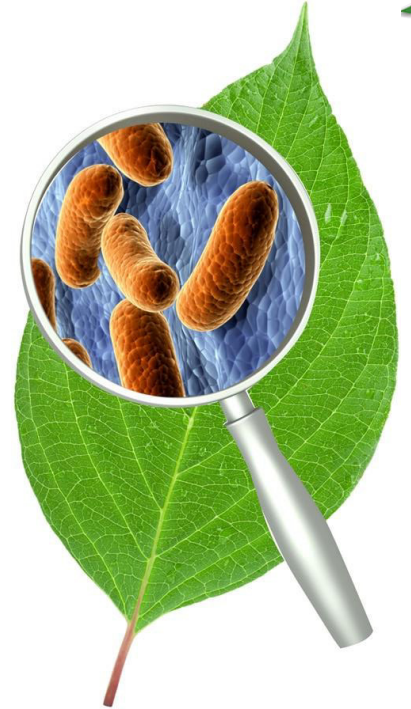
- ❖ La subsuperficie profunda del suelo, que se puede extender varios cientos de metros por debajo de la superficie del suelo, no es un yermo biológico.
- ❖ Aunque el número de microorganismos es mucho menor que en suelo del horizonte A, en los suelos de la subsuperficie profunda habitan diversos microorganismos, principalmente procariotas.
- ❖ En muestras recogidas asépticamente en perforaciones a 300 m de profundidad se han encontrado diversas poblaciones de *Bacteria* y *Archaea*, anaerobios como bacterias reductoras de sulfato, metanógenos y acetógenos así como varios aerobios y anaerobios facultativos.



PLANTAS COMO HÁBITAT PARA LOS MICROORGANISMOS



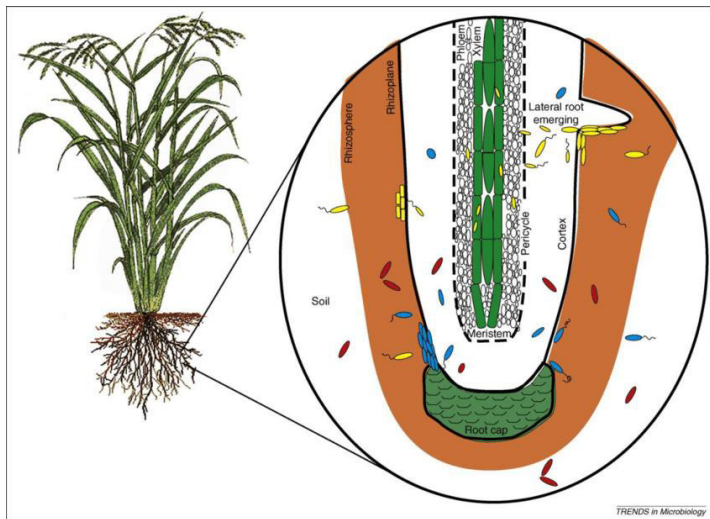
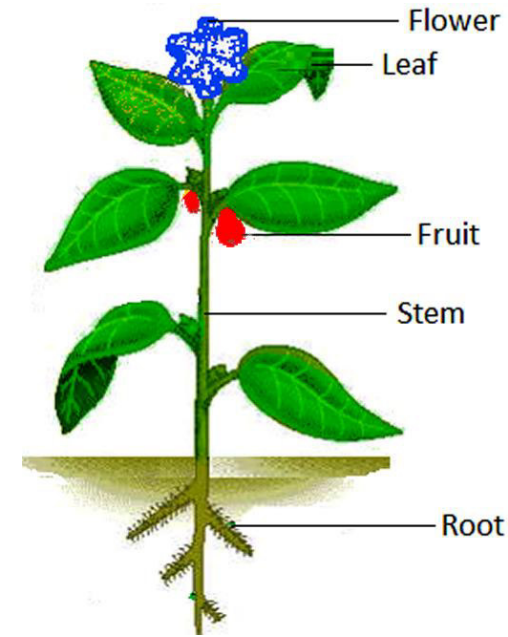
- ❖ Como hábitat microbiano, las plantas son considerablemente diferentes de los animales y también de cualquier otro hábitat.
- ❖ Comparada con los animales homeotermos, la temperatura de las plantas varía enormemente tanto durante el día como a lo largo todo el año.
- ❖ Comparado con el complejo aparato circulatorio de un animal, el sistema de comunicación interno de una planta está poco desarrollado, por lo que la transferencia de los microorganismos dentro de la planta es relativamente ineficaz.
- ❖ Comparadas con los ecosistemas microbianos terrestre y de agua dulce, las superficies de las plantas están totalmente expuestas al O_2 y pueden ser ricas en materia orgánica de exudados.
- ❖ Como las plantas necesitan estar expuestas a la luz solar, las comunidades microbianas de la superficie de las plantas están expuestas a la radiación UV potencialmente dañina y sufren muchos más efectos fotooxidativos que los microorganismos en la mayoría de las comunidades.





Las partes de la planta por encima del suelo, especialmente las hojas y los tallos, están sujetas a sequías intermitentes.

Por este motivo, muchas plantas contienen cubiertas de cera en las hojas que sirven para retener la humedad e impedir la entrada de los microorganismos.



Las raíces, en cambio, son una importante zona de actividad microbiana

Aquí, la humedad es menos variable, la concentración de los nutrientes y la actividad microbiana son generalmente elevadas y la comunidad microbiana es más diversa y abundante.

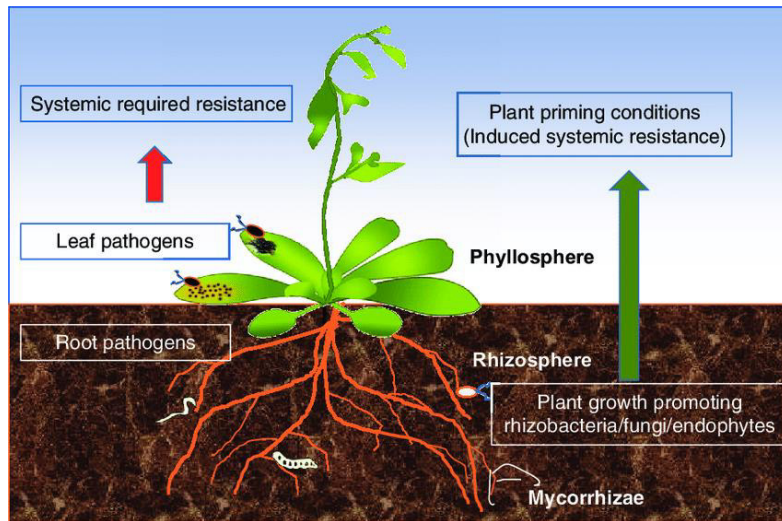
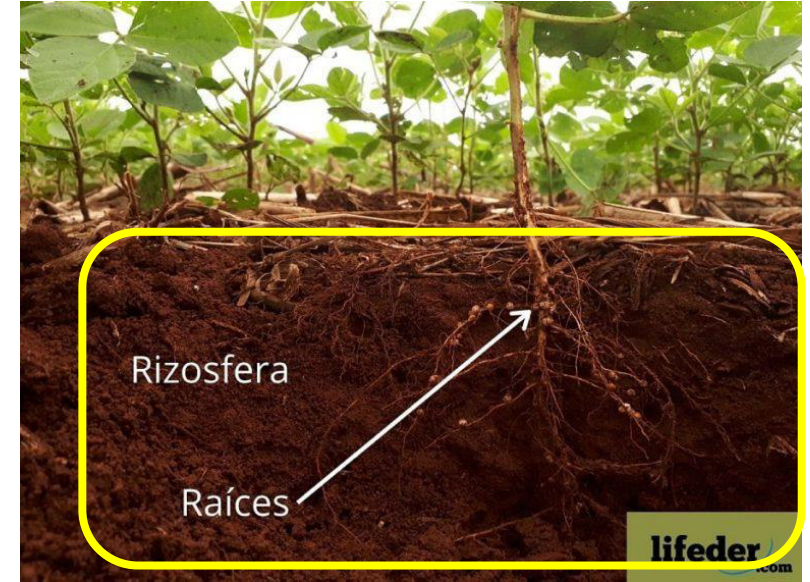
RIZOSFERA

Región del suelo que rodea la raíz.

Zona con elevada actividad microbiana.

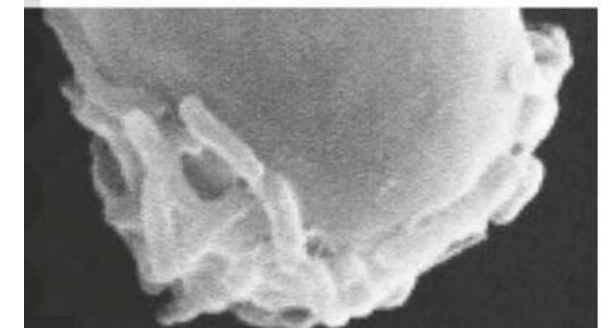
El rizoplano es la superficie real de la raíz.

El número de microorganismos es casi siempre mayor en la rizosfera y el rizoplano que en las regiones del suelo desprovistas de raíces.



Las raíces excretan cantidades significativas de azúcares, aminoácidos, hormonas y vitaminas.

Las bacterias y hongos forman microcolonias en la superficie de las raíces para tener un acceso rápido a estos nutrientes.

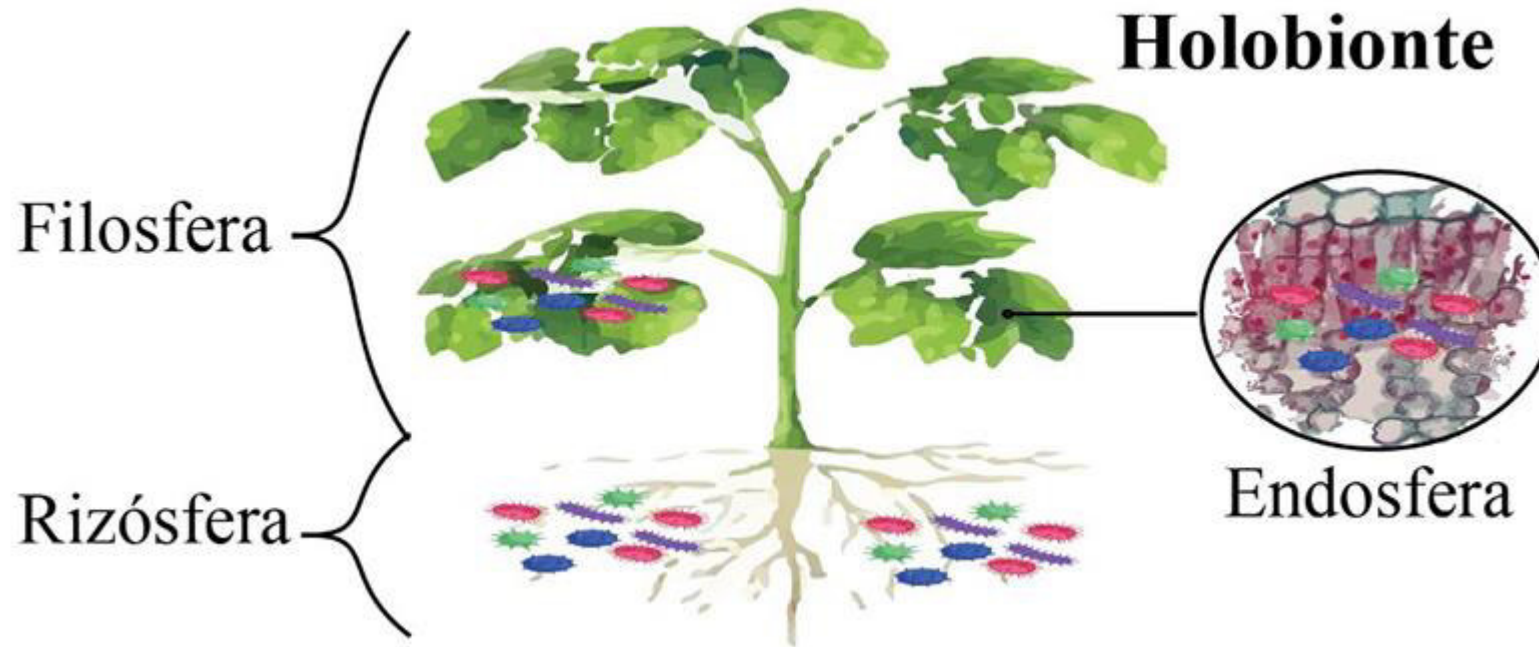


Rhizobium leguminosarum biovar *trifolii*
adheridas a un pelo radical del trébol

FILOSFERA



- ❖ Es la superficie de la hoja de la planta.
- ❖ En condiciones de humedad elevada, como en los bosques húmedos de las zonas tropicales y templadas, la microbiota de las hojas puede ser muy abundante e incluir hongos y bacterias
- ❖ Muchas bacterias de la filosfera sobre las hojas o los tallos de las plantas fijan el N_2 y lo comparten con la planta, quien, a su vez, proporciona glúcidos y otros nutrientes a los microorganismos.



SIMBIOSIS ENTRE PLANTAS Y MICROORGANISMOS



Existen muchas asociaciones simbióticas beneficiosas: líquenes, micorrizas y los nódulos de la raíz de las leguminosas.



- ❖ Uno de los mutualismos más importantes se da entre las leguminosas y las bacterias fijadoras de nitrógeno.
- ❖ Las leguminosas son plantas que tienen las semillas dentro de una vaina y son la tercera familia más grande de las plantas con flores que incluye especies de gran importancia en la agricultura (industria agroalimentaria) como la soja, el trébol, la alfalfa, el poroto y las arvejas.



Esta capacidad de las leguminosas de crecer sin fertilización nitrogenada ahorra millones al año en fertilizantes a los productores del agro.¹²

- ❖ La agricultura moderna enfrenta nuevos desafíos, integrando enfoques ecológicos y moleculares, para lograr mayores rendimientos de los cultivos y reducir al mínimo los impactos sobre el ambiente.
- ❖ Para generar mayores rendimientos se han incrementado significativamente las dosis de fertilizantes sintéticos por unidad de superficie, los cuales pueden provocar contaminación, daños a la salud y pérdida de la fertilidad de los suelos, convirtiéndose en una de las preocupaciones más importantes en la producción agrícola.
- ❖ Para mejorar la producción sin el uso de fertilizantes de origen sintético, las investigaciones se han orientado hacia el desarrollo de nuevas biotecnologías: provocando que exista un interés creciente en los microorganismos benéficos del suelo ya que éstos pueden promover el crecimiento de las plantas y, en algunos casos, evitar infecciones del tejido vegetal por patógenos.
- ❖ En los sistemas de producción contemporáneos, la mayoría de los cultivos son muy exigentes respecto a la demanda de fertilizantes.
- ❖ Cada día existen más evidencias de que la aplicación continua de fertilizantes nitrogenados puede provocar impactos negativos en los agro ecosistemas, como lixiviación de nitratos, contaminación de recursos hídricos, y emisiones gaseosas, causando daños irreparables al ambiente y con riesgo potencial para la humanidad



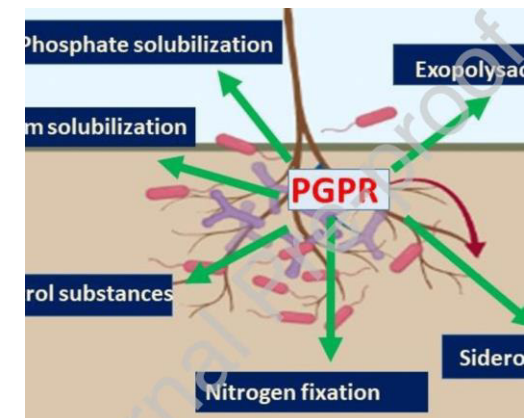
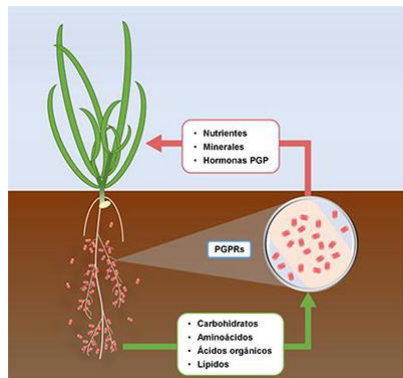
BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO EN PLANTAS



PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*)

RPCV (*rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal*)

- ❖ Bacterias promotoras de crecimiento en plantas con capacidad de control biológico.
- ❖ Ejercen efectos benéficos en las plantas a través de mecanismos directos e indirectos, o una combinación de ambos que incrementan el crecimiento y la productividad vegetal.
- ❖ Acuñado Kloepper y Schroth en 1978, para describir las bacterias que habitan la rizósfera (rizobacterias) y que afectan positivamente el desarrollo de las plantas.
- ❖ Estas bacterias tienen la capacidad de colonizar activamente el sistema radicular para favorecer y/o mejorar su crecimiento y rendimiento.
- ❖ Las PGPR representan alrededor del 2 al 5 % de las bacterias rizosféricas
- ❖ *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcous*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Serratia*.





MECANISMOS DIRECTOS

- Fijación de N₂
- Síntesis de fitohormonas, vitaminas y enzimas
- Solubilización de fósforo (Pi) y la mineralización de fosfato orgánico
- Oxidación de sulfuros
- Incremento en la permeabilidad de la raíz
- Producción de nitritos, la acumulación de nitratos
- Reducción de la toxicidad por metales pesados
- Actividad de la ACC desaminasa
- Reducción de los niveles de etileno en los suelos
- Incremento de la permeabilidad de las raíces



MECANISMOS INDIRECTOS

- Disminución o eliminación de fitopatógenos, a través de la producción de antimicrobianos, de enzimas líticas o una combinación de éstas; por competencia de nutrientes o el nicho ecológico
- Producción de sideróforos, para secuestrar el Fe disponible en los suelos y limitar el desarrollo y la presencia de fitopatógenos
- Producción de ATB y cianuros de hidrógeno que impactan sobre fitopatógenos
- Hidrólisis del ácido fusárico para liberar 1-3-glucanasa, que inhibe el desarrollo de la pared fúngica de hongos como *Phytium ultimum* y *Rhizoctonia solani*

La colonización de su sistema radicular es una etapa esencial para que las PGPR favorezcan el crecimiento de las plantas.

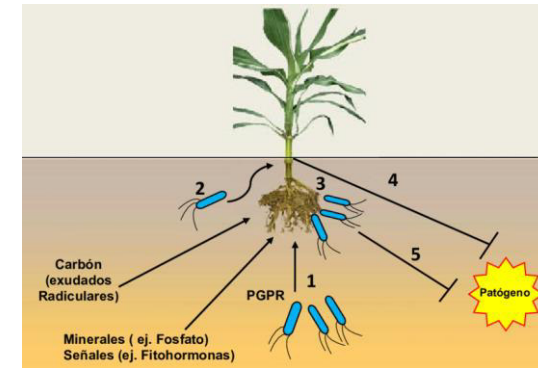
Los elementos fundamentales para una colonización eficiente incluyen la capacidad de los microorganismos para:

- Sobrevivir después de la inoculación,
- Crecer en la ESPERMOSFERA (región que rodea la semilla) en respuesta a la producción de exudados por la semilla,
- Fijarse a la superficie de las primeras raíces,
- Colonizar todo el sistema radicular

La colonización de la raíz por microorganismos endófitos incluye 4 etapas:

1) Atracción 2) Reconocimiento 3) Adhesión 4) Invasión.

Todas están afectadas por factores bióticos y abióticos



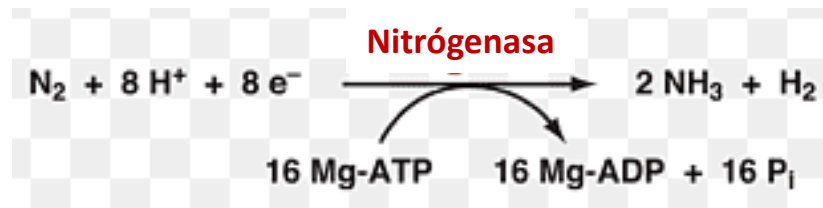
- ❖ La colonización de las semillas es el primer paso en el propio proceso.
- ❖ Los microorganismos que se establecen sobre las semillas durante la germinación pueden crecer y colonizar las raíces en toda su extensión.

NITRÓGENO (N₂)

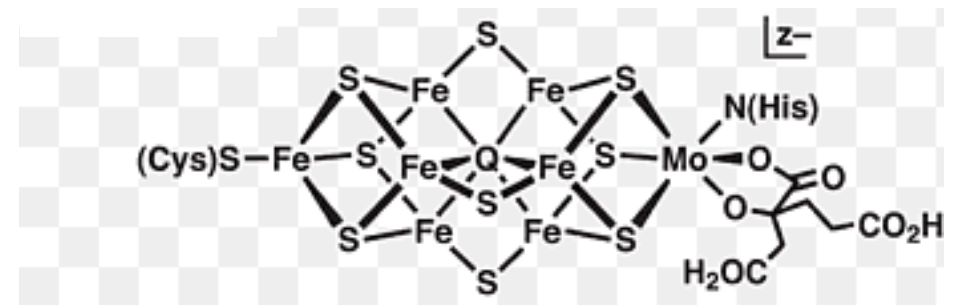


- ❖ Muy abundante en la atmósfera (78,1% en volumen).
- ❖ Sin embargo, las plantas NO PUEDEN utilizarlo en su forma elemental y tienen que obtenerlo del suelo principalmente en forma de nitratos (NO₃⁻) o amonio (NH₄⁺).
- ❖ La fijación biológica de N₂ es un proceso clave en la biosfera, por el cual microorganismos portadores de la enzima NITROGENASA convierten el nitrógeno gaseoso (N₂) en nitrógeno combinado.
- ❖ El grupo de bacterias al que se conoce colectivamente como RIZOBIOS, inducen en las raíces (o en el tallo) de las leguminosas la formación de estructuras especializadas, los NÓDULOS, dentro de los cuales el nitrógeno gaseoso (N₂) es reducido a amonio (NH₄⁺)

Fijación biológica del N₂



Cofactor FeMo





El uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados en agricultura ha ocasionando graves problemas de contaminación.

No todo el fertilizante que se aplica lo aprovecha la planta sino que en una cantidad importante acaba en lagos y lagunas.

La fijación biológica de nitrógeno es la opción natural de fertilización química.



- ❖ Beijerinck en 1888 obtuvo el primer cultivo bacteriano puro de un nódulo de raíz de leguminosa y lo llamó *Bacillus radicicola*.
- ❖ Posteriormente, Frank propuso el nombre *Rhizobium* para estos aislados.
- ❖ Basada en la especificidad de los huéspedes para 1929 ya se habían reconocido 6 especies: *R. leguminosarum*, *R. trifolii*, *R. phaseoli*, *R. meliloti*, *R. japonicum* y *R. lupini*.
- ❖ En esta clasificación, cada especie se componía de cepas que compartían un grupo de leguminosas huésped.

RIZOBIOS

singular rhizobium, plural rhizobia

raíz vida



- ❖ Bacterias del suelo que fijan nitrógeno atmosférico (N_2) después de haberse establecido endosimbióticamente dentro de nódulos radiculares de las leguminosas (*Fabaceae*) ya que NO pueden fijar N_2 independientemente.
- ❖ Son de vida libre que habitan en la rizosfera y se alimentan de restos de organismos muertos.
- ❖ NO esporulan.
- ❖ *Rhizobiuwi*, *Bradyrhizobiwn*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azorhizobium* y *Photorhizobium* son α -proteobacteria.

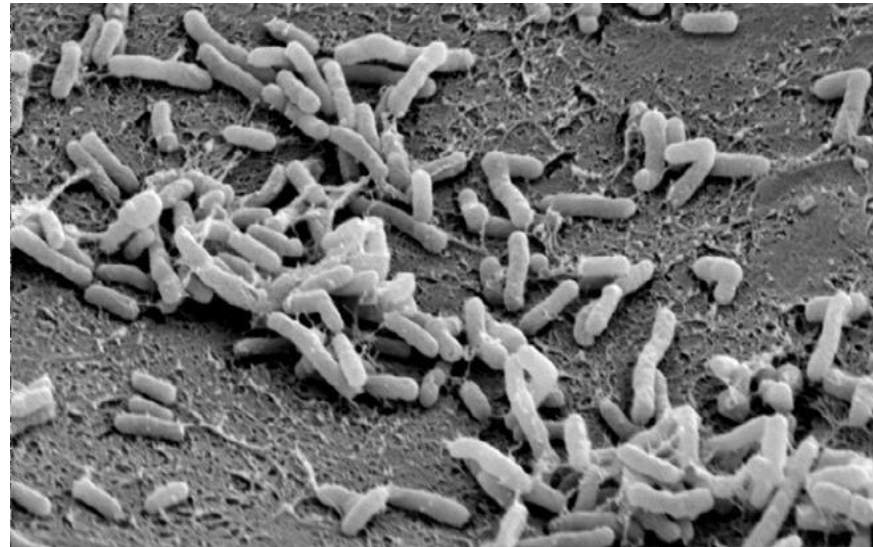


Nódulos en las raíces de soja, conteniendo miles de millones de bacterias *Bradyrhizobium*.

Grupo rhizobia: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium* y *Allorhizobium*, y las cepas *Frankia*, Género Streptomicetaceas, bacterias esporuladoras filamentosas asociadas con plantas actinorrizas, especialmente géneros *Alnus* y *Casuarina*.

Rhizobium

- ❖ Son bacilos Gram -, móviles (1-6 flagelos peritricos o subpolares) aerobios, con 2 capas de pared celular (la 1ra de carbohidratos y proteínas, y la 2da capa por lípidos y carbohidratos).
- ❖ Contienen un plásmido que codifica información que es vital para la infección y la nodulación de la planta hospedadora correspondiente.
- ❖ Las bacterias aportan el nitrógeno necesario para que la planta viva y esta a cambio le da cobijo.
- ❖ Crecen casi en cualquier temperatura, pero su desarrollo es más óptimo a una temperatura de 25°C.



La fijación biológica del N_2 , solo se observa cuando la bacteria reconoce a su hospedero y lo infecta a través de los pelos radicales.

El proceso de infección es inducido por la propia planta mediante la secreción de LECTINA.

La simbiosis viene dada por la formación de una molécula de transporte de O_2 , equivalente a la hemoglobina, la LEGHEMOGLOBINA.

Esto induce una meiosis y mitosis acelerada en la matriz de las células corticales que da lugar a un tejido hipertrofiado.

EL NÓDULO

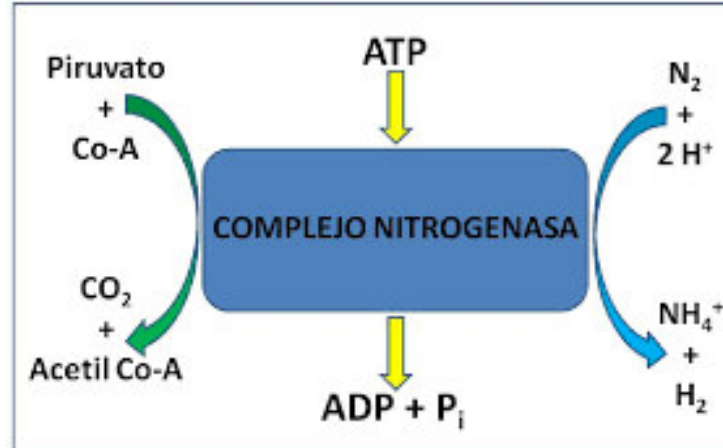
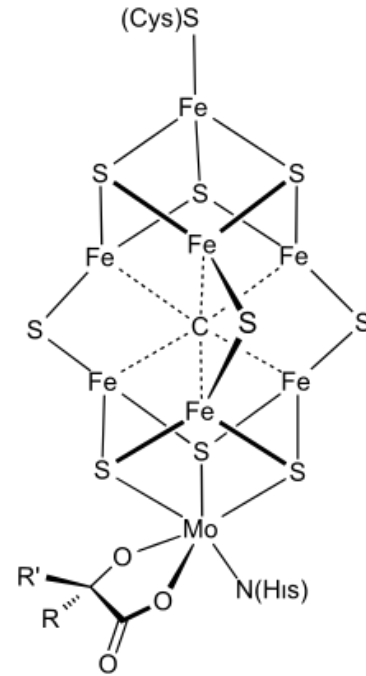
- ❖ La leguminosa alberga en el sistema radical a *Rhizobium* que forma una asociación simbiótica llamada BACTEROIDE (en el citoplasma de las células del nódulo).
- ❖ La enzima nitrogenasa fija el N_2 y lo convierte en NH_4^+ , que luego transfiere al ribosoma vegetal para la síntesis de proteínas vegetales.
- ❖ Simultáneamente por la fotosíntesis, la leguminosa reduce el CO_2 en carbohidratos que servirán como fuente de carbono y energía para *Rhizobium*, y con ella al aumentar la reserva de la glucosa mantenerlo activo en el nódulo hasta cubrir las necesidades de N de la planta.
- ❖ Las plantas les brindan un ambiente que las protege y nutre.



FIJACIÓN DE NITRÓGENO ATMOSFÉRICO (N₂)



- ❖ La fijación biológica de N₂ está limitada a procariontas que poseen el complejo enzimático de NITROGENASA, que consta de 2 proteínas: dinitrogenasa y dinitrogenasa reductasa.
- ❖ Ambas contienen Fe en su estructura.
- ❖ Además la dinitrogenasa contiene Mo que cataliza la reducción del N₂ en amoníaco (NH₃).
- ❖ La activación microbiológica del N₂ genera NH₃, el cual se ioniza al catión amonio (NH₄⁺), vía hidrólisis de ATP y la transferencia de poder reductor acoplado a una cadena de transporte de e⁻.



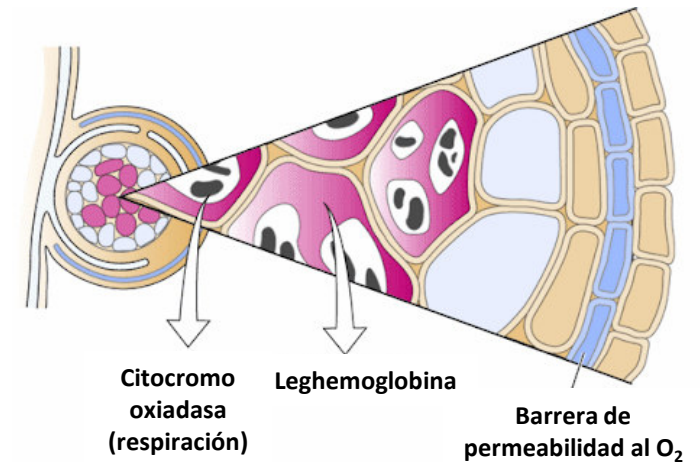
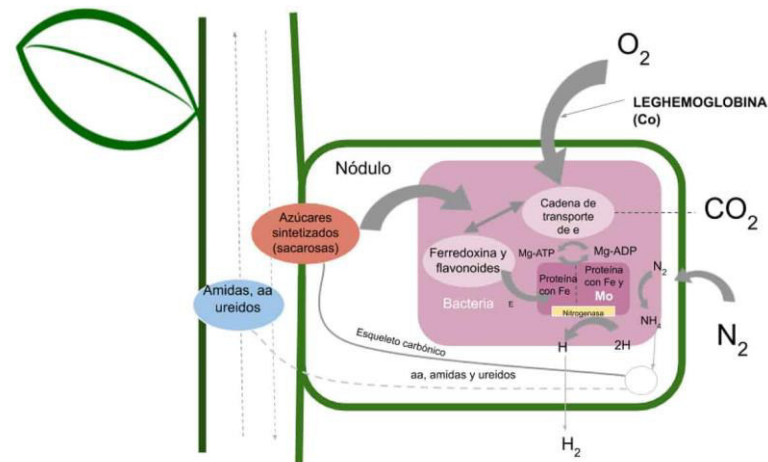
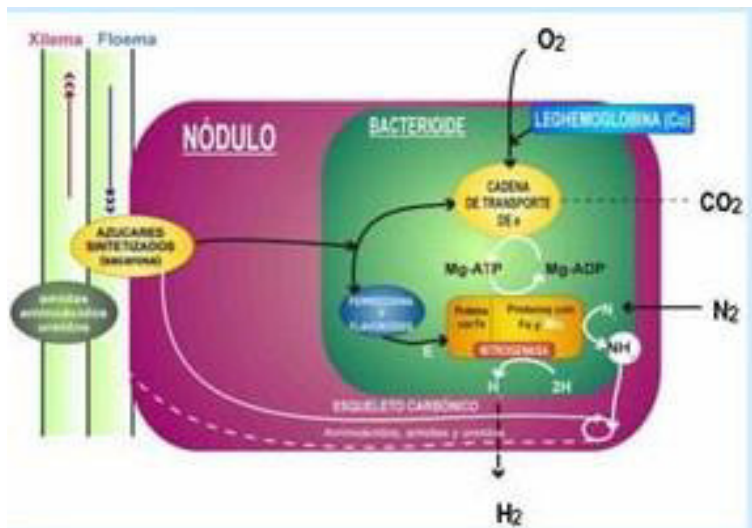
La nitrogenasa cataliza la reacción:



LEGHEMOGLOBINA



- ❖ Ni las leguminosas, ni *Rhizobium* pueden fijar N_2 de forma independiente, solo se logra en el momento en que estas interactúan.
- ❖ En un cultivo axénico, los rizobios NO son capaces de fijar el N_2 por sí solos cuando se cultivan en microaerofilia.
- ❖ La bacteria necesita O_2 para generar energía y así fijar N_2 , pero su nitrogenasa es inactivada por el O_2 .
- ❖ En el nódulo están las concentraciones de O_2 exactas, las cuales son controladas por la proteína leghemoglobina, que se une al O_2 .
- ❖ Su formación es inducida por la interacción planta-bacteria, ya que cada una por aparte es incapaz de sintetizarla (la bacteria sintetiza el grupo Hemo, y la planta sintetiza la apoproteína).
- ❖ Esta proteína es de color rojo ya que contiene Fe, y siempre esta presente en nódulos sanos fijadores de N_2 .
- ❖ Funciona como un tapón de O_2 , cuyo ciclo va de la forma oxidada del hierro (Fe^{3+}) a la reducida (Fe^{2+}) para mantener baja su concentración de O_2 libre en el interior del nódulo, pero constante.
- ❖ La relación en el nódulo de O_2 unido a la leghemoglobina y el O_2 libre es 10.000:1.



- Existe una notable especificidad entre las especies de leguminosas y de rizobio a la hora de establecer la asociación simbiótica.
- Cada especie de rizobio es capaz de infectar determinadas especies de leguminosas, pero no otras.
- Un grupo de leguminosas próximas que se pueden infectar por una especie particular de rizobio se denomina un grupo de inoculación cruzada.

Principales grupos de inoculación cruzada de las plantas leguminosas	
PLANTA HOSPEDADORA	NÓDULOS PRODUCIDOS POR
Arveja	<i>Rhizobium leguminosarum</i> biovar <i>viciae</i>
Poroto	<i>Rhizobium leguminosarum</i> biovar <i>phaseoli</i>
	<i>Rhizobium tropici</i>
Loto	<i>Mesorhizobium loti</i>
Trébol	<i>Rhizobium leguminosarum</i> biovar <i>trifolii</i>
Alfalfa	<i>Sinorhizobium meliloti</i>
Soja	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
	<i>Sinorhizobium fredii</i>
<i>Sesbania rostrata</i> (leguminosa tropical)	<i>Azorhizobium caulinodans</i>

BASES MOLECULARES DE LA INTERACCION RIZOBIO-LEGUMINOSA



Hay señales que se intercambian en la etapa temprana de la interacción

- Los rizobios son capaces de notar la presencia de la raíz de la leguminosa por medio de moléculas de bajo peso molecular secretadas por la raíz (flavonoides, isoflavonoides y betaínas).
- Este proceso tiene especificidad ya que las leguminosas secretan flavonoides específicos para atraer a rizobios específicos.
- En respuesta a la señal de la planta los rizobios responden sintetizando otras señales específicas, los factores Nod, dirigidos hacia la planta hospedadora.

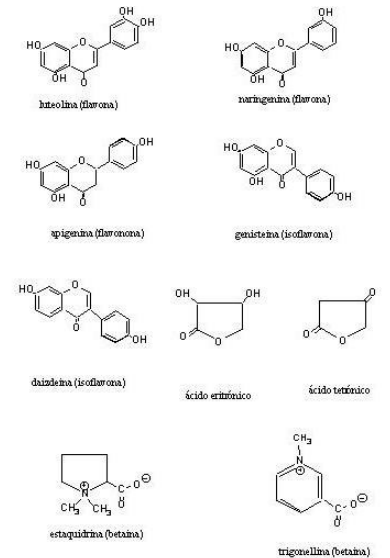
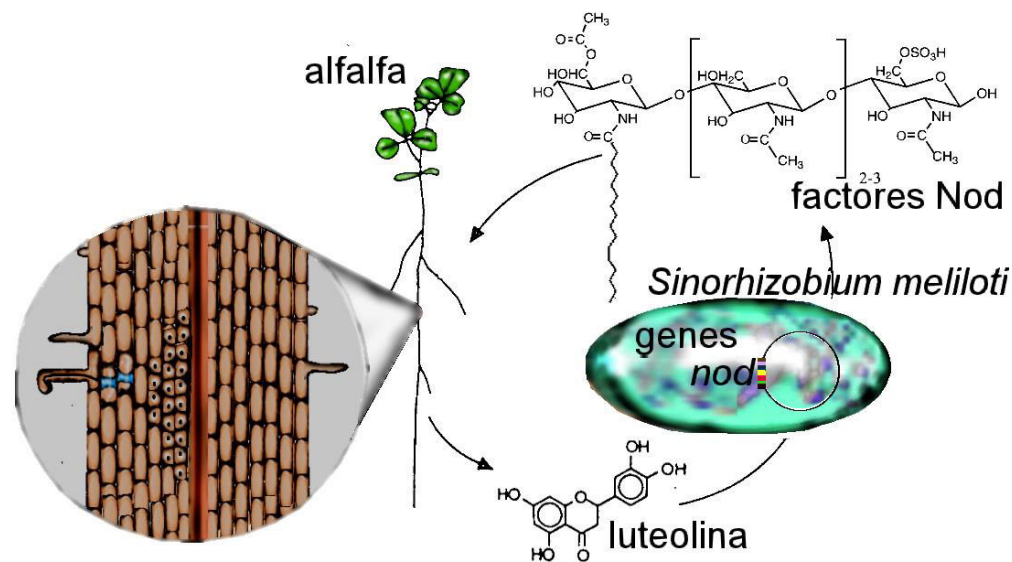


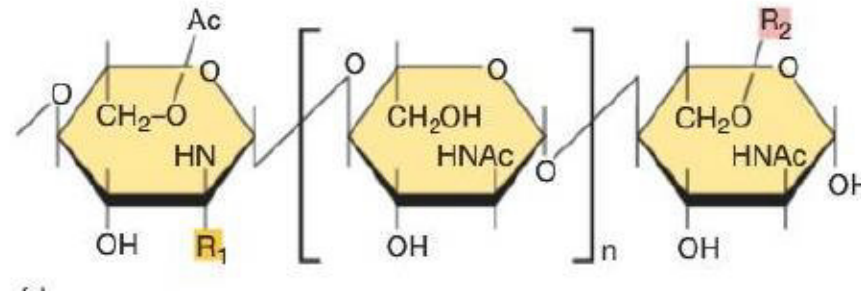
Fig. 7

Los inductores de NodD son los flavonoides vegetales, moléculas orgánicas de amplia distribución que excretan las plantas.

FORMACIÓN DEL NÓDULO:

Genes *nod*, proteínas nod y factores nod

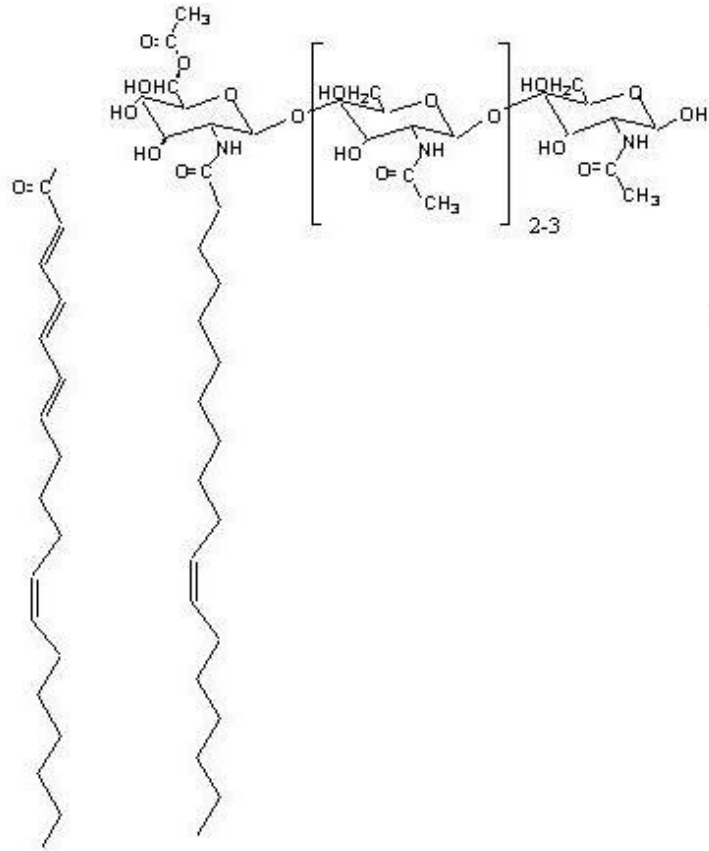
- Los genes bacterianos que dirigen las etapas de la nodulación en una leguminosa se denominan genes *nod*.
- En *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* se han identificado 10 genes *nod*.
- Los genes *nodABC* codifican proteínas que producen oligosacáridos denominados factores nod, que inducen el rizo del pelo radical y desencadenan la división de las células vegetales para formar finalmente el nódulo.



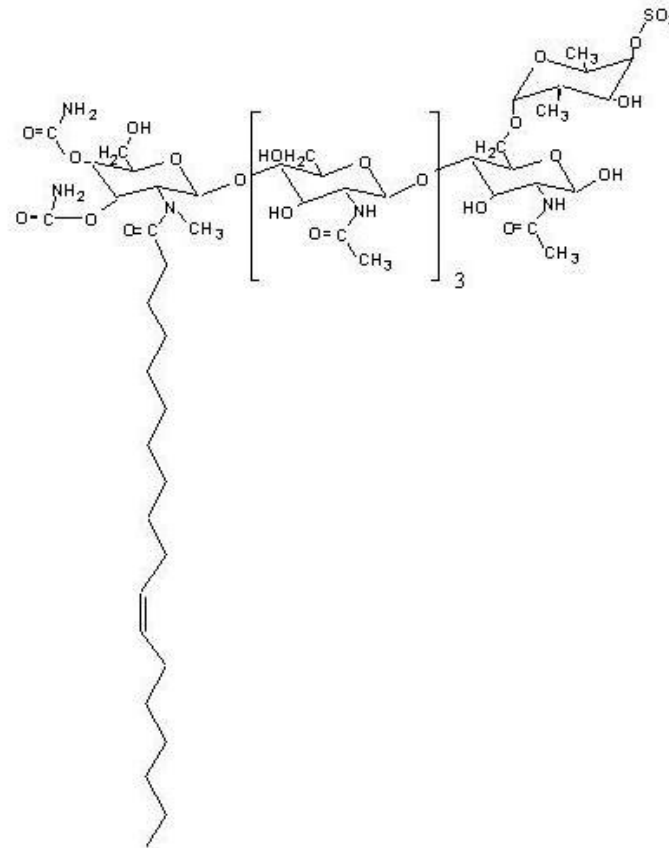
Factores nod producidos por *Sinorhizobium meliloti* y *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*

- Los factores nod consisten en un esqueleto de N-acetilglucosamina al que se unen distintos sustituyentes.
- La especificidad del hospedador viene en parte determinada por la estructura del factor nod sintetizado por una especie determinada de *Rhizobium*.

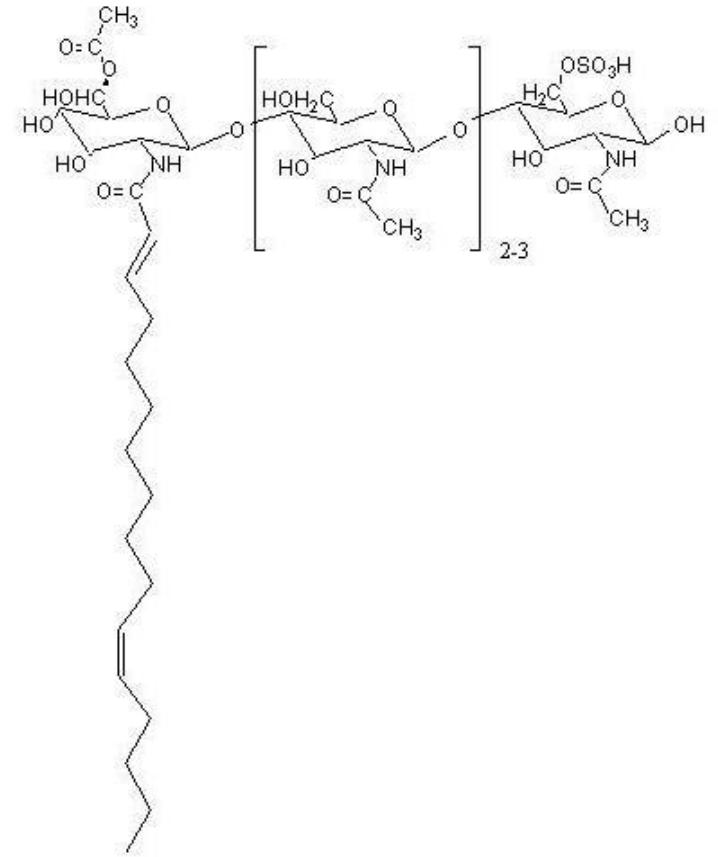
Factores Nod de *R. leguminosarum* bv. *viciae*



Uno de los factores Nod de *Rhizobium* sp NGR234



Factores Nod mayoritarios de *S. meliloti*



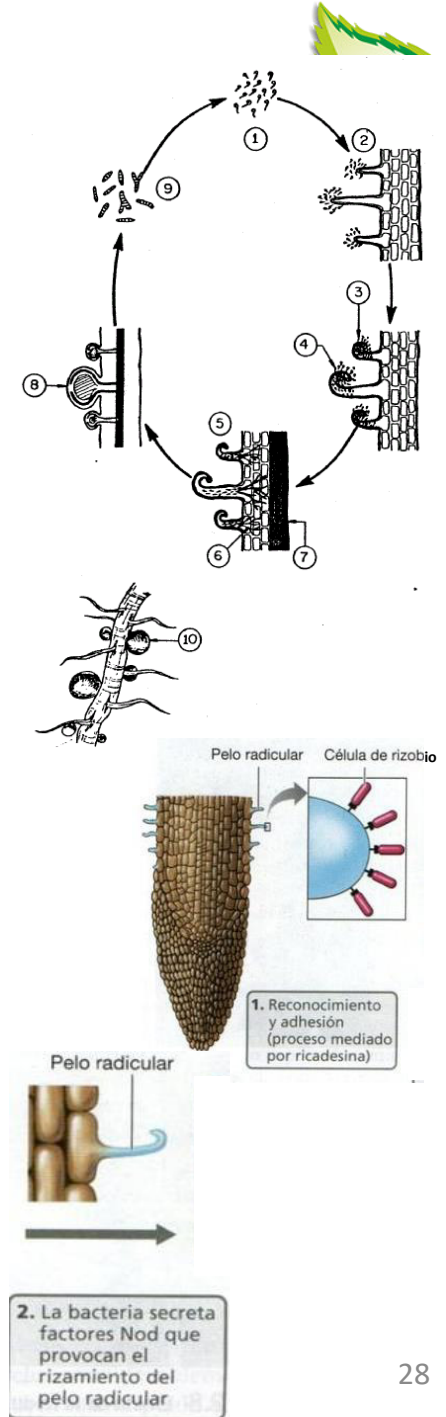
PROCESO DE NODULACIÓN

ADHESIÓN E INFECCIÓN

- ❖ Las raíces de las leguminosas secretan distintos compuestos orgánicos que estimulan el crecimiento de una microbiota variada en la rizosfera (flavonoides).
- ❖ Si están en el suelo los rizobios del grupo correcto de inoculación cruzada, se formarán grandes poblaciones y finalmente se adherirán a los pelos radicales que surgen de las raíces de la planta.
- ❖ En la superficie de los rizobios se encuentra una proteína específica de adhesión, la ricadesina (proteína específica de adherencia presente en la superficie de todas las *Rhizobium* que se une a complejos de calcio de la superficie de los pelos radicales).
- ❖ También desempeñan una función importante en la adhesión entre la planta y la bacteria las glucoproteínas LECTINAS (se unen a oligosacáridos de la superficie bacteriana) y receptores específicos de la membrana plasmática de la planta.
- ❖ Si se produce la adhesión, las células del rizobio penetran en los pelos radicales.

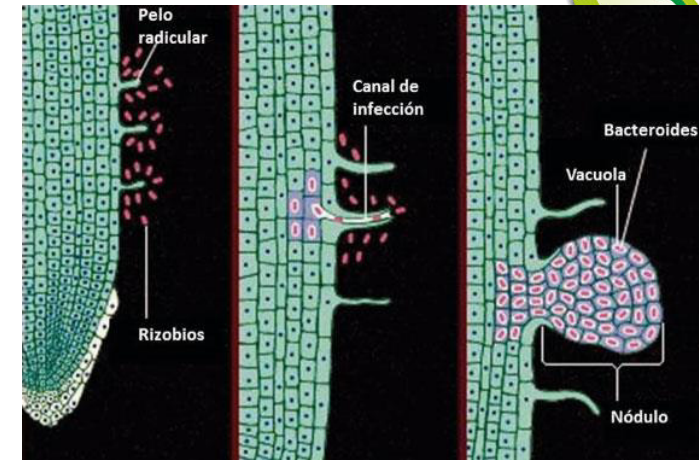
INVASIÓN

Tras la unión inicial de la bacteria al pelo radical, éste se riza por las sustancias excretadas por la bacteria, después de lo cual, la bacteria penetra en el pelo radical e induce la formación del tubo de celulosa en la planta, el TUBO DE INFECCIÓN (por el que las bacterias se desplazan hacia las células de la raíz), que desciende por el pelo radical dentro del cual se multiplicarán los rizobios.



DESPLAZAMIENTO

- Las bacterias se desplazan hacia la raíz a través del tubo de infección y allí la infección alcanza a las células contiguas a los pelos radicales, y los factores nod estimulan la división celular de las células vegetales, formando finalmente el nódulo parecido a un tumor.

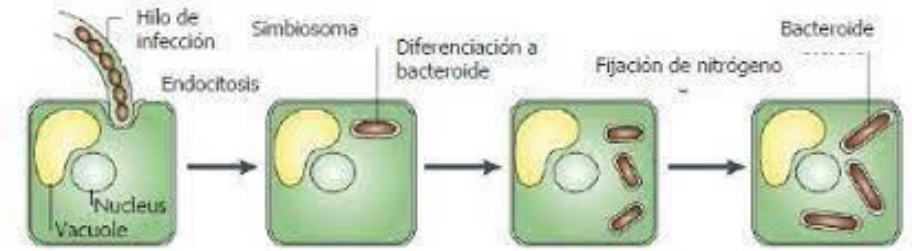


APARICIÓN DE LOS BACTEROIDES

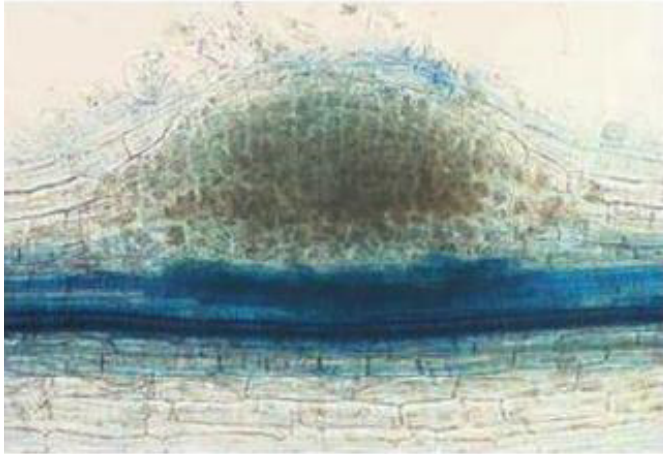
- Dentro de las células vegetales los *Rhizobium* se multiplican y se convierten en formaciones ramificadas e hinchadas, los BACTEROIDES: células bacterianas deformes necesarias para la fijación de N_2 que muestran cambios morfológicos y fisiológicos con sus formas libres en el suelo, incluyendo aumento del tamaño celular y alteración de la estructura de la pared celular.
- Estos quedan rodeados por porciones de la membrana vegetal para formar unas estructuras llamadas SIMBIOSOMA, y en el momento en que estas son formadas se da inicio a la fijación de N_2 .
- SIMBIOSOMA: estructura que se forma dentro de las células de la raíz de la leguminosa, y que contiene a los bacteroides.

DIVISIÓN CONTINUA DE CÉLULAS

- Luego de la formación del nódulo radical maduro, las células bacterianas y vegetales deben permanecer en continua división.



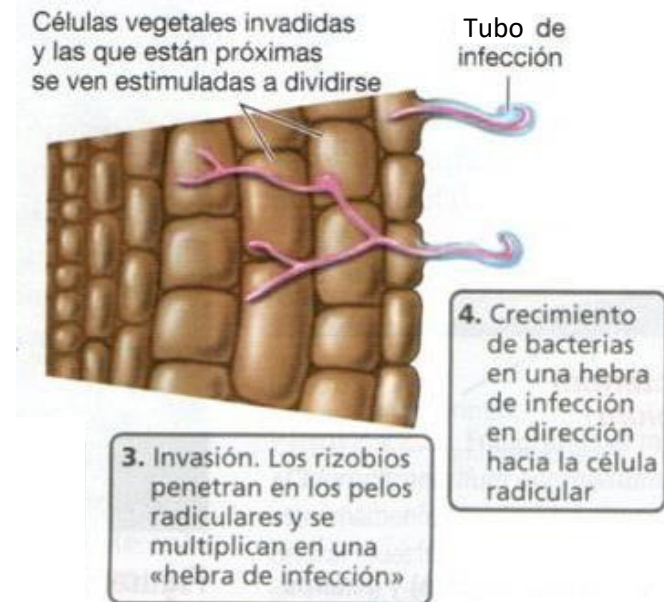
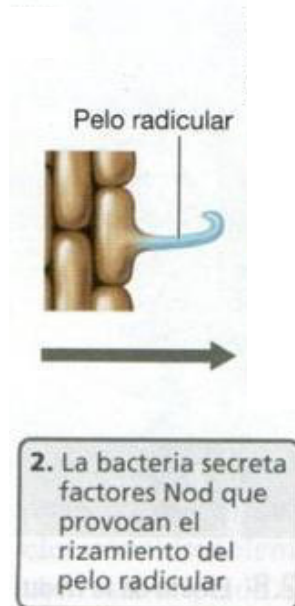
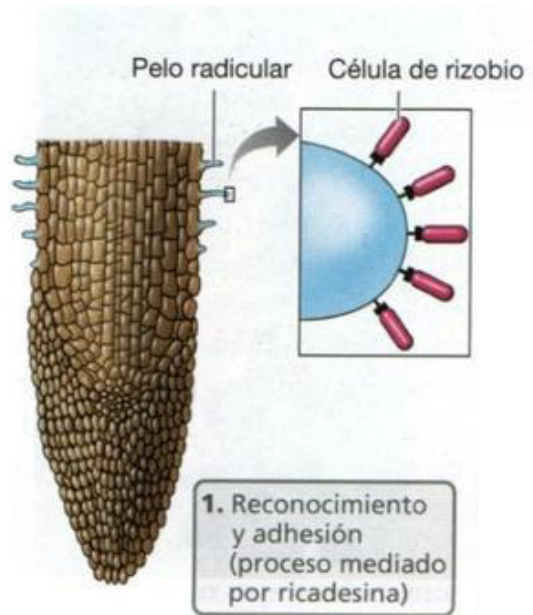
EVOLUCIÓN DE LA NODULACIÓN



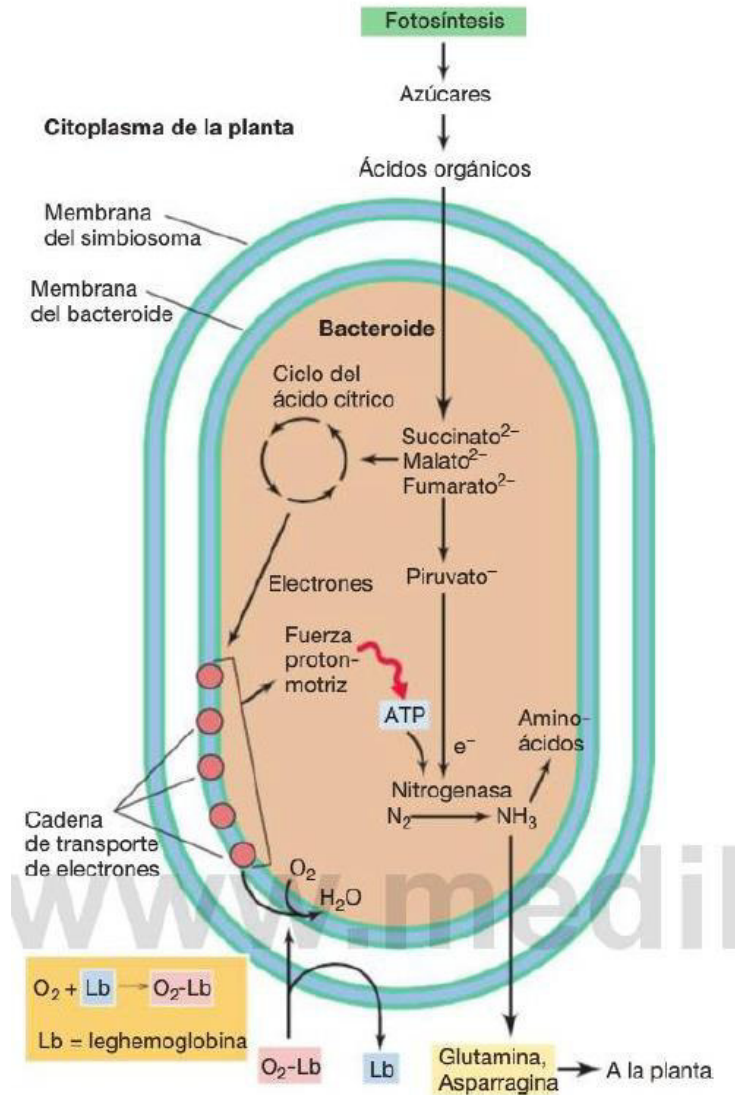
Desde la infección hasta la formación de nódulos funcionales tarda un mes en la soja y en la alfalfa.

ETAPAS DEL PROCESO DE NODULACIÓN

1. Reconocimiento del socio adecuado por ambas partes y adhesión de la bacteria a los pelos radicales
2. Excreción de los factores nod por la bacteria
3. Invasión bacteriana del pelo radical
4. Desplazamiento hacia la raíz principal a través del tubo de infección.
5. Formación de células bacterianas modificadas, los BACTEROIDES, dentro de las células de la planta (SIMBIOSOMA) y desarrollo del estado fijador de nitrógeno.
6. División continua de las células vegetales y bacterianas para formar el nódulo radical maduro.



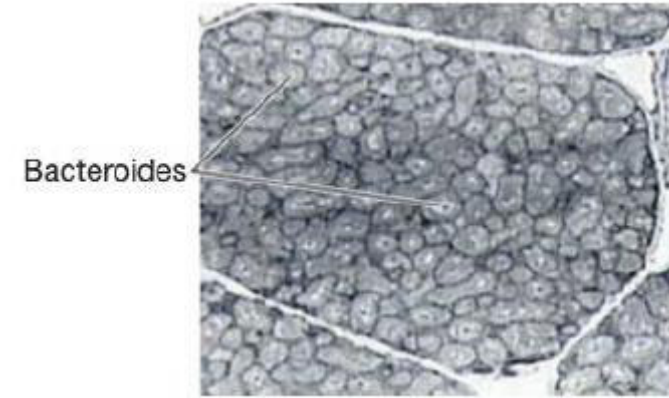
BIOQUÍMICA DE LOS NÓDULOS RADICALES



Los rizobios se multiplican rápidamente dentro de las células de la planta y se transforman en unas células hinchadas, deformes y ramificadas.



BACTEROIDES



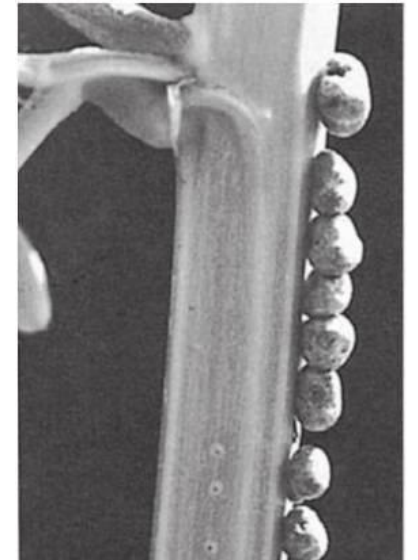
Quedan rodeados por porciones de la membrana de la célula vegetal y forman una estructura denominada SIMBIOSOMA y la fijación del nitrógeno sólo comienza una vez que se ha formado el SIMBIOSOMA.

- Cuando la planta muere, el nódulo se deteriora y libera las bacterias al suelo.
- Los bacteroides son incapaces de dividirse, pero en el nódulo siempre queda un pequeño número de células durmientes del rizobio que ahora proliferan utilizando como nutrientes algunos de los productos del nódulo degradado.
- Esas bacterias iniciarán la infección la próxima estación o se mantendrán en estado libre en el suelo.

RIZOBIOS FORMADORES DE NÓDULOS EN EL TALLO



- ❖ Aunque la mayoría de las leguminosas forman nódulos fijadores de N_2 en las raíces, algunas especies los portan en los tallos.
 - ❖ Se trata de plantas que abundan en las regiones tropicales, en las que los suelos son a menudo pobres en N_2 debido a la lixiviación y a la intensa actividad biológica.
 - ❖ El sistema mejor estudiado es la leguminosa acuática tropical *Sesbania*, en la que forma nódulos la bacteria *Azorhizobium caulinodans*.
-
- Los nódulos del tallo se forman por lo general en la parte sumergida de los tallos o justo por encima del nivel del agua.
 - La secuencia general de etapas para formar este tipo de nódulos en *Sesbania* se parece a la de los nódulos radicales: adhesión, formación de un tubo de infección y formación de bacteroides.
 - Algunos de los rizobios que forman nódulos en los tallos producen bacterioclorofila a y pueden realizar una fotosíntesis anoxigénica (Sección 20.4). Los rizobios que contienen bacterioclorofila se agrupan en el género *Photorhizobium* y se distribuyen abundantemente por la naturaleza, en particular asociados a las leguminosas tropicales, en las cuales la luz aportaría al menos una parte de la energía necesaria para el proceso de fijación de N_2 .

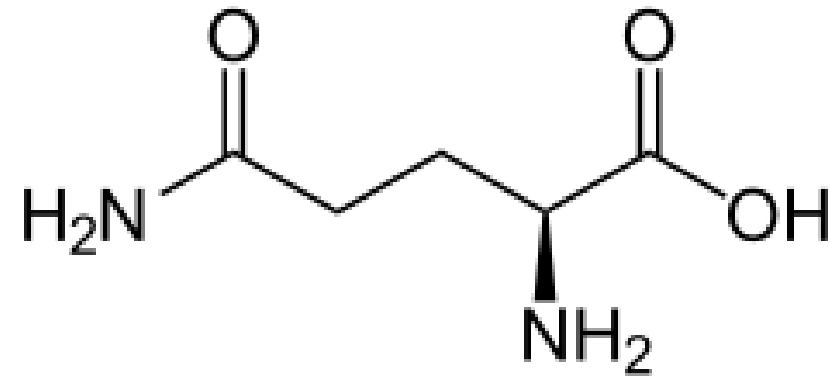
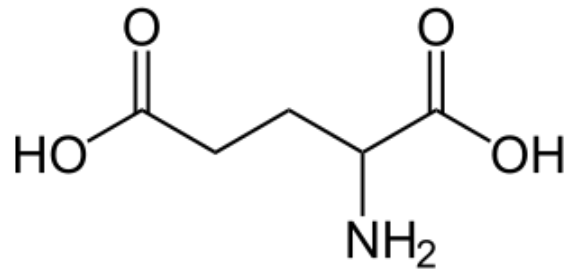


Tallo de *Sesbania rostrata*

ASIMILACIÓN Y DESTINO DEL N₂ FIJADO EN LOS NÓDULOS SIMBIÓTICOS



- ❖ El producto de la fijación del N₂ es el amoníaco, cuya mayor parte se asimila en la planta para formar los compuestos nitrogenados orgánicos.
- ❖ La enzima asimiladora de amonio glutamina-sintetasa se encuentra en gran cantidad en el citoplasma de la célula vegetal y convierte el glutamato y el amoníaco en glutamina.
- ❖ Este y algunos compuestos nitrogenados orgánicos más transportan el nitrógeno fijado por la planta.



INOCULACIÓN EN AGRICULTURA

Técnicas de inoculación de plantas leguminosas

INOCULACIÓN

Técnica de infectar el suelo en el que se desea establecer una leguminosa

Incorpora al suelo la especie y cepa de rizobio que se desea

Conseguir que las bacterias del género *Rhizobium* se incorporen a las plantas, formando nódulos en sus raíces y a partir de éstos fijar N_2 del aire



METODOS DE INOCULACION

- ❖ Existen varias formas de incorporar los rizobios al suelo, algunas en que se aplican directamente al suelo y otras a la semilla que se va a sembrar.
- ❖ Entre los que se aplican directamente al suelo están los granulados y los líquidos.
- ❖ El uso de una u otra forma depende de los equipos que disponga el agricultor, tanto de siembra como de aplicación de productos.
- ❖ Una ventaja de los inoculantes granulados es permitir la siembra de semilla tratada con fungicidas.
- ❖ En esta forma el inoculante no toma contacto con la semilla tratada sino que lo hace por medio de sus pelos radiculares que emergen de la semilla, evitando así el efecto nocivo del fungicida.





INOCULACIÓN SIMPLE

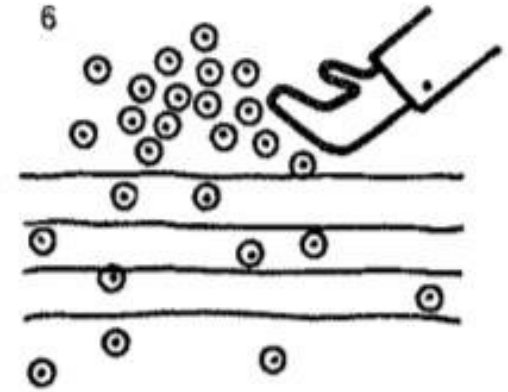
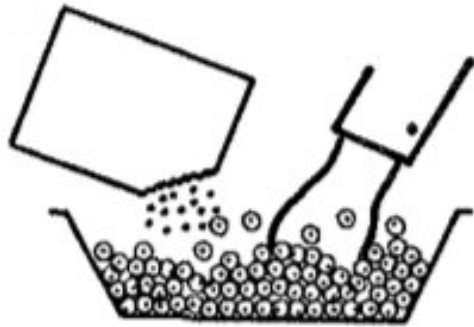
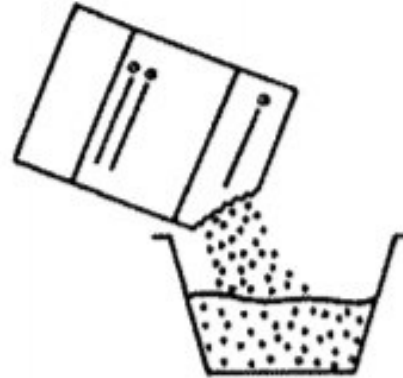
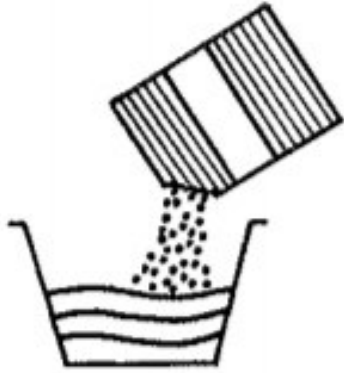


- ❖ Uno de los métodos más antiguos es la mezcla del inoculante con la semilla en la proporción indicada por el fabricante.
- ❖ Un mejoramiento de este método es humedecer la semilla o disolver el inoculante.
- ❖ Si se usa agua con azúcar es mejor porque mejora la adherencia y supervivencia del inóculo.

ETAPAS:

1. Se hace la solución adherente azucarada: 100 gramos de azúcar/ litro de agua blanda (sin sales). Por lo general, se usa 1,5 a 2 litros de agua por cada 25 kilos de trébol blanco, rosado o alejandrino, alfalfa o lotera.
2. Luego se disuelve el inoculante en el agua azucarada revolviendo enérgicamente hasta lograr una disolución homogénea.
3. Para mezclar la solución con la semilla se puede usar:
El tambor de eje excéntrico para desinfectar trigo u otras semillas o una betonera, un tacho o tiesto de cualquier material que permita revolver y mezclar bien la semilla con el inoculante.
 - Amontonar la semilla sobre un suelo firme (cemento, plástico o lona) y revolver con la mano y con pala.
4. Una vez inoculada la semilla se extiende a la sombra sobre concreto, una lona o un plástico, hasta que se seque bien.
5. La semilla debe sembrarse el mismo día.

INOCULACIÓN DE LA SEMILLA



DESARROLLO DE UN PROGRAMA DE INOCULACIÓN



- Encontrar la mejor bacteria y cepa disponible
- Desarrollar a partir de esta la formulación adecuada a las condiciones de uso.
- Desarrollar las condiciones de almacenamiento, transporte, etc.
- Establecer los patrones (mínimos de concentración, actividad biológica, etc.).
- Establecer las instrumentos de fiscalización y de control de calidad.



CALIDAD DEL INOCULANTE



Un inoculante efectivo es aquel que cumple con las siguientes especificaciones:

1. Contiene rizobios suspendidos en un caldo y un soporte que actúa como un “*carrier*” del caldo capaces de producir nódulos y fijar grandes cantidades de N_2 .
2. Deben proveer grandes cantidades de rizobios viables.
3. Debe estar envasado para proteger a los rizobios hasta el momento que sea usado por el Productor.
4. Debe estar libre de otros microorganismos que puedan ser perjudiciales al rizobio o la planta.
5. Debe tener instrucciones claras y la lista de especies de leguminosas que nodula efectivamente, como también la cepa con la cual se trabajó
6. El nombre y la dirección del fabricante también deben estar impresos en la etiqueta

TENER EN CUENTA CUANDO SE VA A UTILIZAR UN INOCULANTE

- ✓ Inscripción en la SAGPyA (SENASA)
- ✓ Fecha de vencimiento
- ✓ Número de lote
- ✓ Condiciones de almacenamiento
- ✓ Especie
- ✓ Concentración bacteriana
- ✓ Dosis
- ✓ Condiciones para la inoculación



COMPARACION INOCULADOS Vs NO INOCULADOS



Tomate



Arándano



Eucalyptus grandis



Girasol



Lechuga criolla



RESUMEN

- ❖ La simbiosis rizobio-leguminosa tiene como resultado la formación de unas estructuras especializadas en las raíces denominadas **NÓDULOS**, fácilmente observables.
- ❖ Tanto la planta como la bacteria han desarrollado un complejo mecanismo de intercambio de señales moleculares que les permiten reconocerse mutuamente y desencadenar el proceso de infección.
- ❖ El primer cambio visible es la deformación de los pelos radicales y su posterior curvatura.
- ❖ A continuación, la bacteria penetra a través de la pared celular hacia el interior de la raíz y crea el denominado canal de infección, que culmina en la región subyacente al meristemo nodular (zona de crecimiento del nódulo).
- ❖ Luego las bacterias se liberan del canal, se diferencian en **BACTEROIDES** (células bacterianas especializadas en proporcionar nitrógeno a la planta) y dan lugar a un nuevo orgánulo denominado **SIMBIOSOMA**, en el que ocurre la fijación de nitrógeno.
- ❖ Cada nódulo radicular contiene millones de simbiosomas.



IMPORTANCIA EN LA AGRICULTURA



- ❖ La simbiosis entre la bacteria *Rhizobium* y las leguminosas tiene una gran importancia tanto en la agricultura, como en el ambiente.
- ❖ La agricultura se ve beneficiada ya que causa un aumento significativo de nitrógeno combinado en suelos desnudo y que carecen de este.
- ❖ Además las leguminosas, parte esencial de la agricultura, se ven favorecidas al poder crecer en zonas donde otras plantas no podrían.
- ❖ Ya que el nitrógeno es uno de los nutrientes esenciales limitados para el crecimiento de las plantas, esta simbiosis aumenta el nivel de fijación del N_2 atmosférico, aumentando así la producción agrícola.
- ❖ También beneficia a la agricultura económicamente, ya que muchas industrias agrícolas dependen de la cosecha de leguminosas, el hecho de que estas puedan crecer sin abonos nitrogenados hace que sea posible ahorrar millones en abono.
- ❖ En cuanto a la parte ambiental, los fertilizantes son uno de los principales causantes del deterioro ambiental, pues causan la EUTROFIZACIÓN de masas de aguas, la erosión de suelos y generación de lluvias ácidas.
- ❖ Estas bacterias fijadoras de nitrógeno pueden ser utilizadas en remplazo de los fertilizantes nitrogenados para incrementar el crecimiento de las leguminosas, acabando con los problemas ambientales que se han venido causando.

TIPOS DE NÓDULOS

Además de la especificidad rizobio-leguminosa que se establece en esta interacción simbiótica, podemos diferenciar 2 variantes en el patrón de desarrollo de los nódulos en función de la planta huésped.

INDETERMINADO

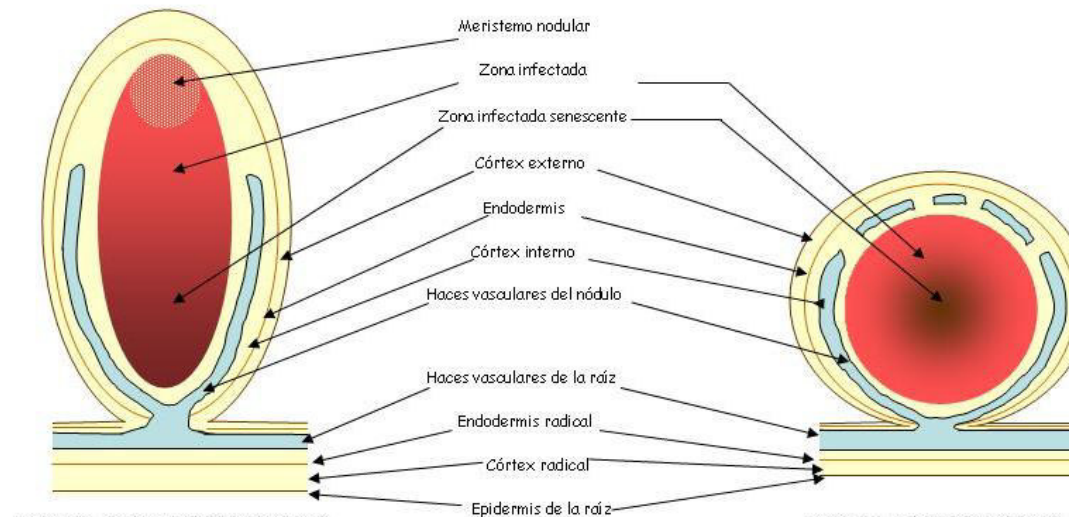
- En climas **TEMPLADOS** presentan forma cilíndrica y a menudo con ramificaciones.
- El cordón de infección llega hasta las células próximas al cilindro vascular y el proceso de infección perdura a lo largo de la existencia del nódulo.



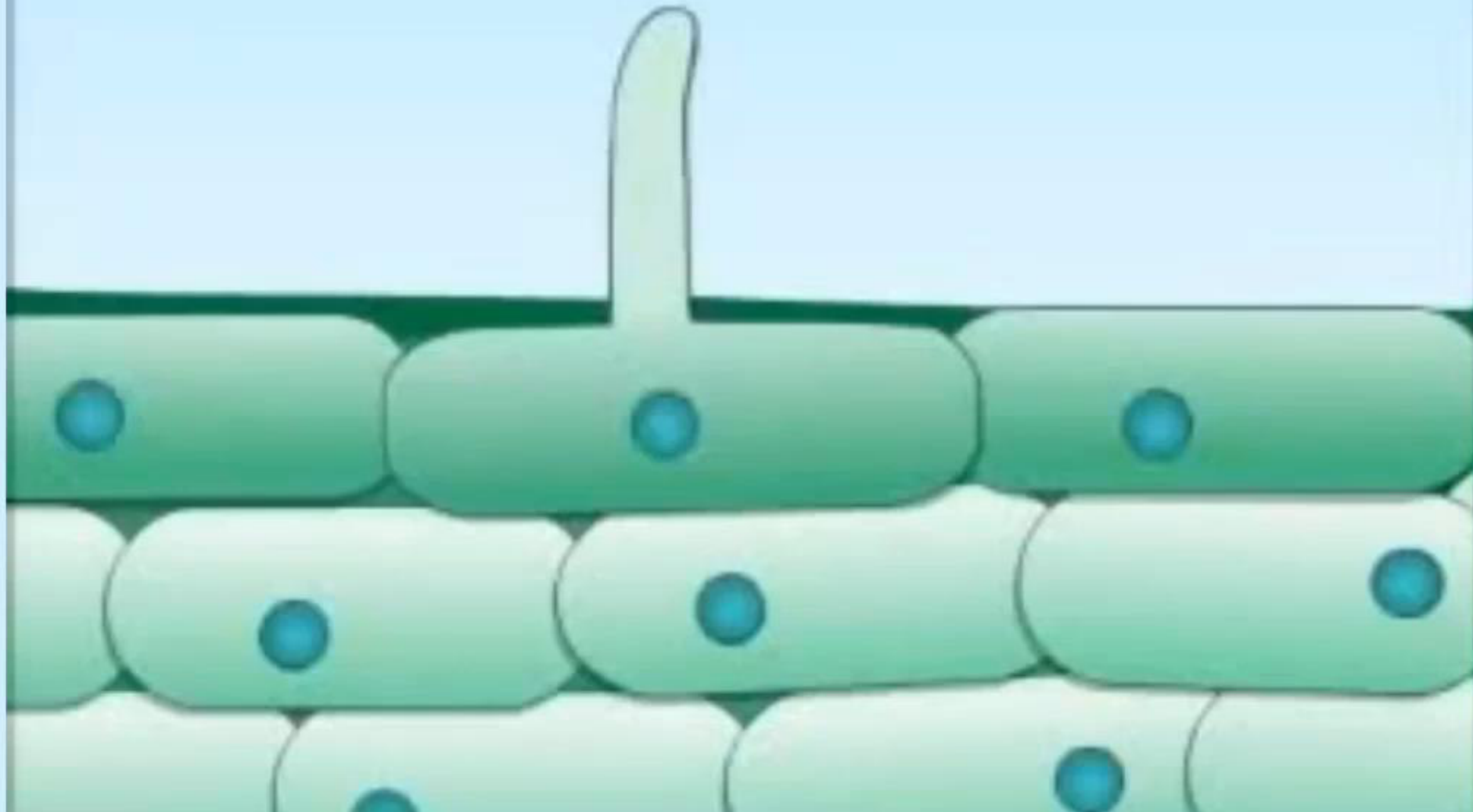
Medicago truncatula

DETERMINADO

- En climas **TROPICALES** y **SUBTROPICALES** se caracterizan por su crecimiento en forma esférica.
- No todas las células son infectadas por el cordón de infección, las infectadas, se dividen hasta conformar el nódulo mientras que las células no infectadas reciben el nombre de células parenquimáticas.



Lotus japonicus







GRACIAS



POR SU ATENCION