

# PASTURAS DE ALFALFA: IMPORTANCIA DE UNA ADECUADA INOCULACIÓN

Ing. Agr. Alejandro Perticari\*. 2006. Segundo Congreso Nacional de Conservación y Uso de Forrajes.

\*IMYZA- CICVyA - INTA Castelar.

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Alfalfa](#)

## SIMBIOSIS

Las especies que integran la familia de las leguminosas, entre ellas alfalfa, tienen una gran avidez por nitrógeno (N) Este elemento fundamental para el desarrollo de las plantas e integrante indispensable en la formación de proteínas es escaso en determinados suelos. Muchas especies de leguminosas, en pos de obtener N, encontraron que asociándose con determinados microorganismos del suelo, podrían alcanzar este objetivo.

Con la evolución se perfeccionó el intercambio creando un sistema, denominado simbiosis, donde los beneficios son mutuos. Como resultado del trueque se crea un nuevo órgano en las raíces de conocido como nódulo. Es a partir y dentro de este órgano de donde se obtiene el N tan codiciado por la leguminosa.

Previamente la planta debe facilitar elementos azucarados a las bacterias para ayudarlas a transformar N<sub>2</sub> atmosférico en amonio, es decir N asimilable que es transportado rápidamente por los sistemas de conducción al resto de la planta. El nombre generalmente elegido para caracterizar este proceso es el de Fijación Biológica de N<sub>2</sub> (FBN)

El buen funcionamiento de la simbiosis rizobio-leguminosa disminuye el consumo de N del suelo manteniendo la fertilidad del mismo.

## ALFALFA

Esta leguminosa, *Medicago sativa*, es una especie de gran plasticidad que puede prosperar en regiones semiáridas, subhúmedas y húmedas. Requiere de suelos bien aireados y profundos y está morfológica y fisiológicamente adaptada para resistir deficiencias hídricas prolongadas y además está dotada de una raíz que le permite penetrar en profundidad en el perfil del suelo. Se estima que en Argentina se cultivan más de 6 millones de hectáreas de alfalfa. Comparada con otras especies, el forraje de alfalfa tiene un mayor contenido de proteínas y por consiguiente, altos requerimientos nitrogenados.

En el área núcleo de Argentina, en condiciones de secano, la alfalfa puede producir entre 8 y 22 Ton. ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de materia seca, dependiendo de la disponibilidad hídrica del año. Esto implica para contenidos medios de proteína del 20%, un consumo cercano a los 500 kg.ha<sup>-1</sup>.año<sup>-1</sup> de nitrógeno, posibles de ser exportados del área de producción, cuando se utiliza como forraje de corte (Racca, R. et al 2001).

Estos altos requerimientos pueden provocar una pérdida rápida y constante de la fertilidad nitrogenada del suelo, si no existe un sistema de reciclaje parcial del nitrógeno unido a un eficiente sistema de fijación biológica de N<sub>2</sub> (FBN) por asociación con rizobios específicos.

De no disponer de nitrógeno por FBN, el cultivo lo extraerá del suelo, agotando sus reservas, sin mostrar síntomas evidentes de faltante. Finalmente, si éstas tampoco estuvieran disponibles, el cultivo resentirá la producción de materia seca (MS) y proteína bruta (PB).

## RIZOBIOS

Los rizobios son bacterias Gram negativas y estas son habitantes comunes del suelo donde están presentes las leguminosas. Sin embargo no todos los rizobios pueden formar nódulos y/o fijar nitrógeno con todas las leguminosas. Por ejemplo *Sinorhizobium meliloti* es la bacteria específica para alfalfa. Esto permite diferenciar a los rizobios por su infectividad o capacidad de nodulación. Ocurre la misma situación con el proceso de FBN, no siempre las cepas altamente infectivas poseen alta efectividad o alta capacidad de fijación de N.

Es decir que hay especificidad en la asociación o par simbiótico, en otras palabras determinadas especies de leguminosas combinan mejor con determinadas especies de rizobios e inclusive hay situaciones donde la especificidad es tal que variedades de una leguminosas combina en forma específica con determinadas cepas de rizobios.

Cuando en los suelos donde se cultiva la leguminosa los rizobios requeridos están ausentes o no son eficientes se procede a la inoculación. La alfalfa no es una especie nativa por esta razón los rizobios específicos no se encontraban presentes en nuestros suelos cuando se introdujo esta forrajera.

## INOCULACIÓN

Es la tecnología desarrollada con la finalidad de incorporar rizobios altamente infectivos y altamente eficientes en las leguminosas de interés agropecuario. El proceso productivo comienza con una exhaustiva selección de las cepas de rizobios contemplando infectividad y efectividad en laboratorio, invernáculo y campo.

Las cepas más eficientes son aquellas que tienen mayor cantidad de nódulos medianos y grandes, arracimados y/o palmados siendo rojos en su interior, ubicados en raíz primaria y tienen rápida y prolongada fijación. Acompañada por una mayor producción de materia seca y de peso total de N

En cambio las rizobios menos eficientes tienen nódulos más pequeños, ubicados en raíces secundarias y tienden a paralizar la FBN en etapas más tempranas presentando en esos casos nódulos de coloración verde.

Los biotipos ineficientes tienen nódulos pequeños, alargados y son en su interior blancos desde etapas muy tempranas. Estos no realizan la FBN y son consideradas cepas parásitas.

En IMYZA-INTA luego de un prolongado programa de selección, con numerosos ensayos en distintas áreas productivas, se ha determinado a las cepas B399 y B401 *Sinorhizobium meliloti* como las recomendables para la inoculación de alfalfa.

Finalmente se cultiva la cepa deseada en fermentadores a fin de incrementar su número. Con este caldo se procede a la obtención de diferentes tipos de formulados. Estos productos llamados inoculantes en el caso de alfalfa pueden presentarse como pulverulentos. Entre los pulverulentos tenemos con soporte turba, dolomita o arcilla, etc.

Sin importar la presentación, un buen producto inoculante para alfalfa debe proveer abundante número de rizobios por g de producto. La exigencia es de  $1 \times 10^9$  rizobios por g de producto a la elaboración y de  $1 \times 10^8$  rizobios por g de producto al vencimiento de 6 meses.

Al inocular debe incorporar una importante cantidad de rizobios por semilla. Por ejemplo para alfalfa son requeridos para una excelente nodulación más de 1000 rizobios por semilla.

El método empleado para agregar el inoculante en conjunto con los requerimientos descritos en 1 y 2) deben permitir que todas las semillas sean inoculadas de manera tal que por lo menos un 80 % de las plantas nacidas sean noduladas con 3 o más nódulos sobre la parte superior de las raíces, luego de 25 días de sembradas.

Por supuesto estos productos deben estar registrados ante el SENASA, indicando su número de lote, fecha de elaboración y la fecha de vencimiento.

**Es fundamental leer y respetar las condiciones de uso descriptas en el producto inoculante adquirido. Se debe lograr que todas las semillas queden cubiertas con el inoculante, a fin de que cada una de ellas disponga del número de rizobios adecuado. Debe controlarse la fecha de vencimiento, la inscripción en SENASA y el número de lote**

En general podemos diferenciar en estas especies tres maneras de incorporar los rizobios:

### Inoculación convencional

Se procede impregnando el inoculante sobre la semilla a tratar según lo indicado por el fabricante. El método húmedo o en pasta es el más recomendable, para ello previamente se prepara una pasta mezclando el inoculante con agua azucarada al 10% o con el agregado de adhesivo provisto por el fabricante.

Esto debe realizarse a la sombra, evitando la exposición a la luz, el contacto con fertilizantes ácidos como superfosfato triple y aplicando productos curasemillas compatibles con los rizobios (por ejemplo thiram y no captan).

Este sistema no asegura una alta supervivencia de los rizobios por la tanto la semilla debe ser sembrada inmediatamente a la aplicación. Tampoco protege a las rizobios en suelos ácidos, situación relativamente frecuente en siembras de alfalfa, cuyo rizobio es el más sensible a la acidez.

### Peletización

Es una tecnología que permite extender el período de supervivencia de los rizobios sobre la semilla y por otra parte adecua al medio ambiente que rodea la semilla logrando una mejor implantación de la pradera. Entre las ventajas podemos mencionar una mayor protección en suelos ácidos y en condiciones de deficiencia hídrica en el momento de la siembra, evitando la germinación hasta que los niveles de humedad no se eleven a valores cercanos a capacidad de campo.

Los materiales que contemplan son a) semilla, b) Inoculante, c) Adhesivo y d) Polvo de recubrimiento y si fuese necesario curasemillas compatibles.

Entre los adhesivos que pueden utilizarse puede mencionarse la goma arábiga, los derivados de carboximetilcelulosa, etc. que preparados no dañen al rizobio, es decir no sean diluidos con agua clorada y con el pH ajustado entre 6,5 a 7,5. El carbonato de calcio extra liviano y precipitado es un buen ejemplo de polvo de recubrimiento recomendable. En un primer paso se agrega mezcla del inoculante con el adhesivo sobre la semilla

y posteriormente se agrega polvo de recubrimiento tratando de no superar en ningún caso el 30% del peso de la semilla (no más de 300 g de polvo por kg de semilla).

En caso del curasemilla se puede agregar en una nueva capa separándolo del inoculante. Estas operaciones pueden hacerse en mezcladoras de cemento sin paletas o con peletizadoras (algunas empresas nacionales ya disponen de prototipos al alcance del productor, semilleros, etc.).

Para obtener el mejor provecho de este sistema se requiere el empleo de materiales de alta calidad y rigurosidad en el protocolo y sobremanera evitar las combinaciones indeseables que provoquen una falla parcial o total del procedimiento. Entre las fallas más comunes se encuentra el exceso de polvo de recubrimiento, adhesivo mal preparado, la excesiva pildorización que atenta incluso con la germinación de la semilla, dado que esta última necesita respirar.

Una buena peletización puede almacenarse desde poco días hasta un mes según calidad final del pellet y el polvo usado.

### **Preinoculación y peletización**

Son semillas inoculadas y peletizadas previamente por procesos industriales. Las semillas de alfalfa tratadas por este método tienen una sobrevivencia de los rizobios prolongada que supera largamente los 6 meses. Existen en el mercado semillas importadas que cuentan con este proceso e inclusive tecnología desarrollada nacional. Esto facilita los tiempos del productor. Las exigencias de calidad son más altas que las mencionadas anteriormente. Según lo descrito por las distintas empresas productoras.

#### **Controles previos:**

Se realizan controles sobre el estado general de la semilla, analizando su poder germinativo (PG), viabilidad de la semilla, la presencia de malezas, etc. También se controla el ingreso de los materiales de acuerdo a lo indicado en los procedimientos de producción.

Durante el proceso se llevan a cabo controles en todas las etapas del proceso productivo (incluye embolsado y etiquetado) analizando parámetros aceptados por los procedimientos de control de calidad como humedad, resistencia a la fricción (IRF), cobertura, etc.

Sobre el producto Final se realiza el análisis del poder germinativo, recuentos de bacterias, firmeza del pellet (IRF), etc.

**Cantidad de bacterias sobre semilla:** El estándar requiere 2000 bacterias sobre semilla.

**Firmeza del pellet (IRF):** control que se realiza a la semilla en donde se determina la firmeza de la cobertura.

Mide "la cantidad de semillas que permanecen con su cobertura intacta luego de someter a la semilla peleteada a una fricción aplicada orbitalmente entre dos superficies". El estándar aceptado es del 60%. Este parámetro de cobertura indica que la semilla tendrá mínimos problemas durante la siembra.

**Nodulación:** Se determina el % de plantas noduladas. El parámetro establecido es del 80 %.

## **LIMITACIONES DE LA SIMBIOSIS**

El sistema simbiótico requiere que no haya condicionantes por exceso o por defecto para el desarrollo normal del cultivo. Uno de los factores que limitan la fijación de nitrógeno en soja es la presencia de formas combinadas de nitrógeno en el suelo.

Los suelos fértiles con moderada o alta disponibilidad de formas inorgánicas de N en el momento de la siembra y/o importantes tasas de mineralización durante el ciclo del cultivo afectan al establecimiento de la simbiosis ya que retardan el inicio de la nodulación y/o inhiben el funcionamiento del sistema fijador (Lett, et al 1998)

Altas concentraciones de nitratos inhiben el proceso de infección, el desarrollo de los nódulos y la expresión de la actividad nitrogenasa. Hay evidencia de que cuando la relación C/N es baja el limitado suplemento de C al nódulo retrasa la FBN. Para la planta, es más económico tomar N del suelo y/o de fertilizante que de la FBN. A mayor presencia de N en el suelo menores posibilidades hay para la FBN y a la inversa a menor presencia de N del suelo hay más N de la FBN.

Al limitarse la FBN, el balance de N del suelo resulta negativo en extremo, porque convierte a la soja como expoliadora más que restauradora de la fertilidad del suelo. Las carencias de P, K, Ca, S y de micronutrientes disminuyen la formación de nódulos y por consiguiente la FBN.

El proceso de agriculturización en la región pampeana provocó modificaciones físicas, con procesos erosivos y pérdida de materia orgánica. Ante esta extracción, son más frecuentes las respuestas a la fertilización de los cultivos tanto de macro como de microelementos.

La simbiosis es sensible a condiciones de anegamiento, con sólo 2-3 días de inundación se puede provocar una alta mortandad de nódulos. La compactación es una de las limitaciones más frecuentes observadas para el cultivo de alfalfa y como consecuencia también son bajos los aportes de la simbiosis por menor cantidad y menor tamaño de nódulos.

En suelos ácidos, se ha observado que la respuesta a la inoculación es baja debido a diferentes factores incluyendo entre estos la limitada sobrevivencia de *S. meliloti* y restricciones para la asociación simbiótica rizobio-alfalfa bajo acidez. Los efectos del estrés hídrico son directos sobre la nodulación y la FBN: Las siembras en condiciones secas provocan la mortandad de bacterias y disminuyen la posibilidad de lograr una nodulación apropiada; la falta de agua en etapas tempranas retrasa la aparición de los nódulos y la falta de agua en etapas reproductivas limita la FBN, restringiendo los rendimientos por menor aporte de N para la formación de granos.

Con temperaturas bajas se retrasa el proceso de infección y la nodulación. No todas las cepas de rizobios toleran temperaturas superiores a los 40°C. La salinidad y la falta de aireación en el suelo también influyen en forma negativa sobre la simbiosis.

### COMPETENCIA

Las cepas introducidas por los inoculantes permanecieron en el suelo después de cultivada la alfalfa. La repetida inoculación permitió el establecimiento en los suelos de poblaciones de rizobios naturalizadas provenientes de las cepas inoculantes. Estas poblaciones varían entre 10 a más de 100.000 por g de suelo.

En algunas de esas poblaciones se ha realizado un proceso de derivación genética, de tal manera que la cepa original introducida con alta eficiencia simbiótica se ha disipado en nuevas subcepas con un variado grado de eficiencia que retienen una alta capacidad para formar nódulos.

Esto generó el fenómeno de competencia donde las cepas del inoculante compiten contra los presentes en el suelo por la formación de los nódulos. Como consecuencia, se obtienen menos beneficios con la inoculación ya que las cepas del suelo ocupan la mayor proporción de los nódulos.

### EFFECTOS SOBRE LOS RENDIMIENTOS

El tipo de respuesta es dependiente de los antecedentes previos ya sea tengan antecedentes de cultivo de alfalfa o no, del tipo de suelo, nivel de compactación, fertilidad, magnitud y calidad de las poblaciones de rizobios capaces de nodular alfalfa y nivel de acidez. En suelos nuevos para alfalfa los efectos son evidentes y con incrementos de rendimiento de MS y PB que van desde el 20 al 200%.

En cambio en suelos con historia previa de alfalfa con frecuencia se observan incrementos en los rendimientos de PB y en algunos casos se ven efectos positivos sobre los rendimientos en MS sobre todo en los primeros cortes. En otro aspecto, en muchos casos se observa una mejor implantación del cultivo.

### CONTRIBUCIÓN DE LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITROGENO

En Argentina se ha evaluado durante 4 años en 5 sitios experimentales los aportes de alfalfa por la FBN empleando las cepas B399 y B401 de *Sinorhizobium meliloti*. A partir de los resultados obtenidos en el marco de este Proyecto denominado PRONALFA se realizaron las siguientes conclusiones y consideraciones finales.

En líneas generales se puede concluir que el sistema de FBN en alfalfa en la región pampeana funciona adecuadamente, aportando a la producción forrajera de la especie cantidades muy significativas de N a lo largo de la vida del cultivo, con un promedio de 235 kg N ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup>, solo en la fitomasa aérea, especialmente bajo condiciones ambientales favorables para el crecimiento de las plantas.

Como aspecto novedoso y de gran trascendencia para el cultivo, se señala la presencia de nódulos activos y longevos a profundidades de hasta 1.10 m. Se especula que esa masa nodular en profundidad sería bastante independiente de las condiciones ambientales y sería fundamental para otorgar estabilidad al sistema de FBN, satisfaciendo gran parte de los requerimientos nitrogenados del cultivo.

La formación nodular de novo en las capas superficiales del suelo (0-40 cm) sería más dependiente de las condiciones meteorológicas (humedad y temperatura) y actuaría como compensadora de los mayores requerimientos nitrogenados del cultivo cuando se dan condiciones ambientales favorables para su crecimiento.

- ◆ Los rizobios incorporados con el inoculante, fueron capaces de formar nódulos funcionales y eficientes en todos los sitios experimentales durante las cuatro campañas del ensayo, tanto en superficie como en la profundidad.
- ◆ Se observó la presencia de nódulos activos, provenientes de cepas introducidas y naturalizadas, hasta la máxima profundidad de 1.10 m.
- ◆ Los nódulos formados por cepas provenientes del inoculante fueron en promedio, de un 50% durante las dos primeras campañas, reduciéndose al 27% en las dos últimas.
- ◆ Para un amplio rango de producción anual de forraje, la FBN representó el 61% del total de nitrógeno incorporado por el cultivo, sin diferencia entre variedades.
- ◆ Cuando no se presentan limitantes muy marcadas para la fijación (sequías, compactación de suelo, etc.), por cada 1000 kg de materia seca producida, se incorporan 23 kg de nitrógeno proveniente de la atmósfera a través de la FBN.

- ◆ La cantidad promedio de nitrógeno derivado de la FBN calculada en función de la biomasa total del cultivo (aérea y radical), fue de 350 kg ha año, con máximos de 639 y mínimos de 169 kg ha año.
- ◆ Las deficiencias de fósforo no afectaron el porcentaje de nitrógenos derivados de la FBN, pero si redujeron la producción de forraje y en consecuencia, la cantidad total de nitrógeno fijado.
- ◆ En líneas generales se puede concluir que el sistema de FBN en alfalfa en la región pampeana funciona adecuadamente, aportando un porcentaje muy significativo del total de nitrógeno requerido por el cultivo a lo largo de su ciclo, favoreciendo la sustentabilidad del sistema.

En conclusión si bien es posible que existan rizobios en el suelo, con la inoculación con cepas seleccionadas en leguminosas forrajeras se aumenta la eficiencia de la FBN, la calidad de la producción del cultivo y en muchos casos los rendimientos y los niveles de proteína del forraje. Esto se traduce potencialmente en mayor producción de carne y/o leche.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Racca, R; Collino, D; Dardanelli, J; Basigalup, D; Gonzáles, N; Brenzoni, E; Hein, N. Y M. Balzarini. 2001. Contribución de la fijación biológica de nitrógeno a la nutrición nitrogenada de alfalfa en la región pampeana. Ediciones INTA 56 pág,

[Volver a: Alfalfa](#)