

Producción y Uso de Inoculantes

David H. Hubbell*

INTRODUCCION

Todos nosotros conocemos bien, en general el sistema leguminosa-*Rhizobium*; el cual representa un ejemplo clásico de una simbiosis entre planta y bacteria que resulta en la fijación de nitrógeno atmosférico en forma orgánica, aprovechable por la planta. Es por éste aspecto que reconocemos la importancia de este sistema en la agricultura. La metodología que se emplea para utilizar este sistema en la agricultura recibe el nombre general de "inoculación." Esto se refiere a la práctica de poner cepas seleccionadas de *Rhizobium*, que son altamente infectivas para leguminosas específicas y altamente efectivas en la fijación de nitrógeno, en el suelo o sobre la superficie de las semillas de la planta huésped. Hecha de buena manera, la inoculación asegura un buen rendimiento bajo condiciones limitantes de nitrógeno sin la necesidad de aplicar fertilizantes nitrogenados. Esto es de gran beneficio para agricultores en todas partes del mundo cuando se considera el alto costo y la baja disponibilidad de fertilizantes en la mayoría de los casos.

Esto tiene importancia adicional puesto que las leguminosas se emplean en todas partes del mundo como fuente valiosa de alimento y forraje.

La metodología general que se emplea en la producción y uso de inoculantes para aplicación científica o comercial, es parecida tanto en principio como en la práctica. A continuación enfatizaremos los principios importantes que se aplican en cualquiera de las dos situaciones. Los numerosos e impor-

* Professor, Soils Department, University of Florida, Gainesville, Florida 32611, U.S.A.

tantes detalles técnicos que pertenecen a éste tópico, se pueden encontrar en las referencias.

PRODUCCION DE INOCULANTES

La producción de inoculantes empieza con la obtención de cepas de *Rhizobium* que son (1) muy infectivas para la planta huésped; capaz de formar muchos nódulos en las raíces lo más pronto posible después de la germinación de la semilla y (2) altamente efectiva; capaz de fijar nitrógeno atmosférico a un nivel bastante alto. Cepas de valor potencial se pueden obtener, por pedido, a otros laboratorios o compañías comerciales. En algunos casos, por ejemplo, cuando se trata de introducir una leguminosa en un suelo por primera vez, esa puede ser la única manera de obtener cepas. En los casos en los cuales la leguminosa se encuentra ya en el suelo, existe la posibilidad de que cepas buenas para inoculante estén presente. Sin embargo, estas cepas varían bastante en sus características simbióticas. Por lo tanto, es altamente recomendable tratar de aislar y evaluar esas cepas en cuanto a su potencial como inoculantes. Frecuentemente se encuentra que alguna de esas cepas son superiores debido a que se han adaptado a condiciones ambientales que son únicas para ese suelo; tales como pH, temperatura, nivel de nutrientes, humedad, y toxicidad de aluminio.

Cepas nativas de *Rhizobium* pueden ser aisladas usando la planta huésped como un agente de selección. Bajo condiciones adecuadas para el crecimiento de la planta, rizobios nativos formarán nódulos en las raíces de la planta. El interior de cada nódulo representa, en la mayoría de los casos, un cultivo puro de una sola cepa de rizobio. Por eso, los nódulos obtenidos de leguminosas creciendo en el campo pueden ser esterilizados superficialmente y entonces los rizobios pueden ser aislados de los nódulos por una variedad de métodos normales. Las cepas así aisladas, tienen que ser evaluadas rigurosamente por varias razones.

Primero, hay mucha variación en la habilidad simbiótica entre cepas de *Rhizobium* y es muy probable que algunas de las cepas nativas, que varían mucho en efectividad, puedan formar nódulos en la misma planta. Estas cepas varían significativamente tanto en infectividad como en efectividad. También, en el aislamiento de cepas de nódulos de plantas del

campo, siempre hay la posibilidad de aislar un contaminante o alguna otra cepa que no sea *Rhizobium*. El éxito de dichos aislamientos de los nódulos se puede aumentar mediante la selección de nódulos grandes y jóvenes que muestren un color rojo en su interior, lo cual es indicativo de la presencia de leghe-moglobina y altos niveles de fijación de nitrógeno.

Después de una purificación rigurosa, cada cepa es evaluada por su infectividad y efectividad en asociación con la planta huésped original de la cepa. Existen varios métodos para tales evaluaciones, pero todos ellos necesitan la característica de poder excluir cualquier posible contaminación de la planta huésped con cepas de *Rhizobium* que no son las que están siendo evaluadas. El potencial relativo de cada cepa puede ser estimado mediante evaluación regular del tiempo y grado de nodulación, coloración del interior de los nódulos, y determinación del peso seco de la parte aérea de la planta y nitrógeno total analizado por Kjeldahl. Estos métodos sencillos deberán indicar cepas que ameriten evaluaciones adicionales bajo condiciones de campo. Se ha observado comúnmente, que la mayoría de las cepas evaluadas bajo condiciones muy artificiales de laboratorio, no se comportan bien bajo condiciones de campo.

En tales casos, factores desconocidos que estén presentes bajo condiciones de campo pero no bajo condiciones de laboratorio forman una situación en que la cepa probada o evaluada no puede competir con las cepas nativas por sitios de infección en las raíces de la leguminosa huésped. Las razones de esos efectos competitivos son desconocidos. Existe una gran variedad de métodos disponibles para el crecimiento en masa de cepas que se van a usar en la producción de inoculantes. Estos métodos varían desde sistema de vidrio (pequeña cantidad) hasta fermentadores metálicos (grandes cantidades) de varios tamaños. El control de temperatura y oxígeno es crítico en todos los casos. Un nivel moderado de oxígeno y una temperatura de 28°C es adecuada en general.

Para pruebas de nodulación en el laboratorio, solamente hay que inocular plantas con unos cuantos mililitros de un cultivo joven de *Rhizobium* que se desea probar. Para ensayos de campo, el inoculante se usa en una forma que consiste de *Rhizobium* (caldo cultivo) adsorbido en turba ya bien molida. El inoculante (polvo de turba más *Rhizobium*) se aplica sobre

la superficie de las semillas, cubiertas con un "pegante" como goma arábica, poco antes de la siembra. Ya se han probado muchas variaciones en la formulación de inoculantes, con varios grados de éxito según la situación. Sin embargo, la forma de polvo de turba es más sencilla para usar y más exitosa en la práctica.

La turba para inoculante se obtiene muchas veces de fuentes locales y es muy importante probar o evaluar la turba en relación a su habilidad de soportar los rizobios sin daño o en condición viable, antes de emplearla para inoculante en gran escala. La calidad de las turbas muestra gran variación. Algunas turbas claramente muestran varios grados de toxicidad contra los rizobios.

USO DE INOCULANTES

Los inoculantes fabricados como polvo de turba son colocados en bolsas de plástico, de tamaño conveniente, que son permeables a los gases pero no a la humedad. En esta condición, el inoculante puede ser almacenado bajo condiciones frescas (5°C) por cinco o seis meses sin pérdida significativa de su viabilidad. Una vez que el inoculante está preparado es importante tomar en cuenta que los rizobios tienen gran sensibilidad a la desecación y alta temperatura. Cada uno de estos factores puede causar, inevitable y rápidamente, la muerte de las células de *Rhizobium*.

Las siguientes sugerencias son ofrecidas para indicar algunas de las fuentes de errores más comunes, en obtener y usar un inoculante comercial, que resultan frecuentemente en una inoculación no exitosa.

1. Compre una marca de inoculante de buen nombre o reputación en cuanto a calidad.
2. Compre inoculante de un vendedor que comprenda la naturaleza y el uso de los inoculantes y la importancia de un almacenamiento adecuado.
3. Compre el tipo de inoculante que es específico para la leguminosa que se va a sembrar.
4. Compre inoculante "fresco" - hecho en el mismo año; hay que notar la fecha de expiración en la bolsita.

5. Después de comprar el inoculante, manténgalo en condición fresca (5°C si es posible) antes de usarlo.
6. Es importante inocular las semillas en la sombra (evite el calor y la sequedad producida por el sol) y sembrarlas en un suelo bien preparado, con humedad adecuada, para mantener viable los rizobios.
7. Use *por lo menos* el nivel recomendado del inoculante; no es costoso usar un exceso de inoculante y frecuentemente es beneficioso.
8. No aplique inoculante a semillas tratadas con pesticidas porque muchos de esos materiales son tóxicos para los rizobios.
9. No aplique inoculante directamente en contacto con fertilizantes para evitar los efectos dañinos ocasionados por los extremos de pH de los fertilizantes.

El punto más importante para recordar en todas las etapas de producción y uso de inoculantes, es que la inoculación es exitosa debido a la actividad de pequeños organismos VIVIENTES. Si se hace algo en el proceso completo de inoculación que mate los rizobios antes de la infección de las raíces de la leguminosa huésped, entonces el proceso de establecimiento de la simbiosis fracasará completamente.

REFERENCIAS

- MEISNER, C.A. and H.D. Gross. 1980. Some Guidelines for the Evaluation of the Need for and Response to Inoculation of Tropical Legumes. Tech. Bul. No. 265. North Carolina Agricultural Research Service, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.
- SPEIDEL, K. L. and A.G. Wollum. 1980. Evaluation of Leguminous Inoculant Quality - A Manual. Tech. Bul. No. 266. North Carolina Agricultural Research Service. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.
- STOWERS, M.D. and G.H. Elkan. 1980. Criteria for Selecting Infective and Efficient Strains of Rhizobium for Use in Tropical Agriculture. Tech. Bul. No. 264. North Carolina Agricultural Research Service, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.
- VINCENT, J.M. 1975. Manual Práctico de Rizobiología. Publicado por: Editorial Hemisferio Sur, Pasteur 743, Buenos Aires, Argentina.

**MEMORIA DEL SEMINARIO REGIONAL DE
FITOPROTECCION**

*Keith L. Andrews, Héctor Barletta
y George E. Pilz (editores)*
MIPH—EAP No. 23. 1985. 211 p.

La publicación registra 29 trabajos científicos desarrollados por destacados especialistas en fitoprotección de Centroamérica, México, Estados Unidos y Sudamérica sobre diferentes tópicos presentados en un Seminario Regional sobre Fitoprotección que se celebró en la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, en abril de 1984.

La obra publicada en la revista científica CEIBA de la EAP, aborda un capítulo relacionado con la enseñanza de la fitoprotección en Centroamérica a nivel de Agrónomo, Ingeniero Agrónomo y Post-grado la cual es de interés especial para fitopatólogos, entomólogos, malezólogos y especialistas en manejo integrado de plagas.

Asimismo, registra en tres capítulos los avances en las investigaciones en los campos entomológicos y malacológicos, haciendo énfasis en babosas y plagas de frijol y maíz.