

LA MICROBIOLOGIA DE SUELOS EN EL ECUADOR: SITUACION ACTUAL DE LA INVESTIGACION

Gustavo Bernal Gómez¹

INTRODUCCION

La Microbiología de Suelos es la combinación de la Ciencia del Suelo y de la Microbiología, dos grandes disciplinas que se conjugan en beneficio de la agricultura. La interacción entre las dos ciencias crea la necesidad de una acción interdisciplinaria cuando se lleva a cabo cualquier estudio de Microbiología de Suelos, involucrando a microbiólogos, químicos, físicos del suelo, fisiólogos, nutricionistas, etc.

La Microbiología de Suelos estudia el número y clases de microorganismos, y los efectos de éstos sobre el ambiente suelo y el desarrollo vegetal. Esta disciplina tiene gran importancia al contribuir en la solución de problemas de origen abiótico como la baja fertilidad de los suelos, la acidez, la salinidad, la contaminación con metales pesados, compuestos orgánicos, etc., y problemas bióticos como las enfermedades del suelo. La causa mayor de éstos problemas sin duda ha sido y sigue siendo principalmente el manejo irracional en: a) la preparación del terreno, b) la fertilización (cantidad, época, forma), c) riego, d) uso de pesticidas, e) uso de hidrocarburos, f) uso de monocultivos (carencia de rotación de cultivos).

En relación al suelo, el manejo irracional causa desequilibrios en sus propiedades físicas, químicas y biológicas. No se puede hablar de un suelo de calidad (fértil) sino se considera además de los componentes químico y físico, el componente biológico. Los tres componentes interactúan de manera sinérgica para generar un suelo de calidad en el cual la producción agrícola se vea favorecida y el medio ambiente protegido, especialmente los recursos naturales suelo y agua.

Los microorganismos del suelo desempeñan un rol vital en diferentes procesos del suelo. Así por ejemplo, en la mineralización (ej. bacterias), inmovilización (ej. hongos micorrízicos), eficiencia del ciclo de nutrientes, descomposición (y síntesis) de materia orgánica (MO), en la capacidad de intercambio catiónico, en las reservas de nitrógeno (N), azufre (S), fósforo (P), en la acidez, en la toxicidad, en la capacidad de retención de humedad, en la agregación (estructura) a través de los exudados microbianos, en el régimen de agua, etc.

El nuevo paradigma en el manejo integral de los suelos es por lo tanto el manejo biológico, como componente esencial. Es importante confiar en los procesos biológicos al adaptar germoplasma microbiano a condiciones adversas del suelo, optimizando los ciclos de nutrientes para minimizar los insumos externos y maximizar la eficiencia de su uso. Es necesario que los agricultores dispongan de fuentes orgánicas, debido al acceso limitado, costos elevados y problemas ambientales que producen los agro-químicos. De esta manera la Microbiología de Suelos estaría contribuyendo con una agricultura racional donde se combinen fuentes orgánicas e inorgánicas, permitiendo así la conservación de los recursos naturales y de la biodiversidad. Al manipular procesos biológicos se logra influenciar en la fertilidad del suelo, así por ejemplo las prácticas de inoculación de semillas de leguminosas con la bacteria del género *Rhizobium*, permiten un efecto importante incrementando el nitrógeno en la planta como producto de la fijación del nitrógeno atmosférico por parte del microorganismo. Otro ejemplo es el de las asociaciones micorrízicas, a través de las cuales las plantas se ven favorecidas al incrementar la absorción del P y la protección de planta por productos elaborados por el microorganismo del suelo, como antibióticos, enzimas, sideróforos, etc.

¹ Microbiólogo de Suelos, Ph.D. ANCUPA - Ecuador

Esta presentación da a conocer de manera crítica la situación general de la Microbiología de Suelos en el Ecuador a través de ciertos estudios que merecen ser citados y llevados a cabo por diferentes universidades del país. Esta presentación también enfatiza en las prioridades y necesidades de investigación, para que la tecnología generada llegue al agricultor a través de un apropiado sistema de difusión.

COMPONENTES DE LA MICROBIOLOGIA DE SUELOS

La disciplina de la Microbiología de Suelos incluye a los microorganismos del suelo que van desde 0.02 a 1000 μm de tamaño (bacterias, hongos, actinomicetos, virus, protozoarios, y nemátodos). También se incluye a las lombrices por su relación directa con hongos y bacteria en la descomposición de residuos orgánicos. La disciplina incluye también el hábitat con sus propiedades físicas y químicas donde los microorganismos crecen y ejercen una función. Estudia las transformaciones por parte de los microorganismos del carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, y otros elementos. La formación de la materia orgánica del suelo, y aspectos aplicados (y ambientales): a) rizósfera y espermósfera, b) micorrizas, c) control biológico, d) metabolismo de xenobióticos, e) bioremediación de suelos contaminados, f) abonos orgánicos, y g) composición de la atmósfera.

LA INVESTIGACION EN EL ECUADOR

Estudios de Fijación Biológica de Nitrógeno por la asociación *Rhizobium* – leguminosa.

Sin duda, la fijación biológica de nitrógeno (FBN) por parte de la bacteria *Rhizobium* es el área dentro de la Microbiología de Suelos de mayor investigación en el Ecuador, debido a la importancia de las leguminosas en los agro-ecosistemas. Las leguminosas proveen proteína para el humano y animales, reducen requerimientos de N químico, proveen N en rotación, asociación y cobertura, mejoran la calidad del suelo, contribuyen a recuperar suelos ácidos, mejoran el ciclo del P, mejoran el control de plagas, controlan malezas (cobertura), y mejoran la captura de C. Los rendimientos de las leguminosas y de otros cultivos en el país generalmente son bajos, debido a factores bióticos y abióticos, y a los suelos pobres en nitrógeno. Existen dos maneras de incrementar los rendimientos: a) mediante la fertilización nitrogenada química, y b) mediante la alternativa biológica. La fertilización química lamentablemente constituye una fuente de contaminación de los recursos suelo y agua, y de la pérdida de la fertilidad de los suelos. Por lo tanto la alternativa biológica a través del uso de bacterias del género *Rhizobium* (fijadoras de nitrógeno), es una estrategia favorable que puede contribuir con el incremento del rendimiento de leguminosas de consumo humano y animal, y con la conservación de los recursos naturales a través del uso de leguminosas como componentes esenciales en el mejoramiento de la fertilidad de suelos, propiciando la disminución de fertilizantes químicos.

Las investigaciones en el área de la FBN se iniciaron con la caracterización de cepas de la bacteria *Rhizobium*, a cargo del INIAP y de la Universidad Central del Ecuador (Facultad de Ciencias Agrícolas). El laboratorio de Rhizobiología del Departamento de Suelos de la Universidad de Minnesota (Estados Unidos), a cargo del Dr. Peter Graham, y el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad de La Plata (Argentina), a cargo del Dr. Mario Aguilar fueron importantes colaboradores en las caracterizaciones fenotípica y genética de la bacteria asociada a los cultivos de fréjol y de maní, respectivamente.

El historial de investigación sobre selección de cepas efectivas en la fijación del nitrógeno atmosférico evidencia estudios en arveja (*Pisum sativum*), chocho (*Lupinus mutabilis*), haba (*Vicia faba*) a cargo de la Universidad Central (Facultad de Ciencias Agrícolas), INIAP (Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Santa Catalina, DNPV-EESC), y el Instituto Agropecuario Superior Andino (IASA). En fréjol (*Phaseolus vulgaris*), el INIAP

(DNPV-EESC) conjuntamente con la Universidad de Minnesota han liderado las investigaciones tendientes a obtener cepas eficientes en fijación. En soya han estado involucrados el INIAP a través del Proyecto de Modernización de Servicios Agrícolas (PROMSA), y el IASA. En maní (*Arachis hipogaeae*), alfalfa (*Medicago sativa*) y arveja (*Pisum sativum*), el INIAP (Proyecto PROMSA). En kudzú (*Pueraria phaseoloides*), la Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Aceitera (ANCUPA) conjuntamente con el INIAP. En mucuna (*Mucuna sp.*) en asociación con el maíz (*Zea mays*), la Universidad de Quevedo (Proyecto PROMSA). En alfalfa, el INIAP (DNPV-EESC) y la Escuela Politécnica del Chimborazo (ESPOCH).

El INIAP conjuntamente con el Nitrogen Fixation Tropical Legumes Center (NifTAL) de la Universidad de Hawai, logró determinar el medio de cultivo específico (BJSM: *Bradyrhizobium japonicum* Selective Medium) para la bacteria asociada a la soya.

La Universidad de Loja actualmente lleva a cabo un proyecto financiado por la FUNDACYT, cuyo propósito principal es la valoración en fijación de nitrógeno de leguminosas nativas de zonas secas, con fines del mejoramiento de la fertilidad de los suelos.

Una investigación que merece describirlo en detalle por los resultados obtenidos, es el Proyecto "Selección de cepas de *Rhizobium* asociadas a leguminosas de la Sierra y Costa Ecuatoriana" ejecutado por el INIAP y financiado por PROMSA. Los objetivos fueron: a) incrementar el banco germoplásmico de *Rhizobium* debidamente caracterizado, b) evaluar el potencial simbiótico: (compatibilidad, efectividad e infectividad), c) evaluar turbas y otros sustratos como soportes, d) evaluar la esterilización de los soportes, y e) difundir los resultados obtenidos e institucionalizar un sistema de control de calidad.

En el caso del *Rhizobium* asociado al fréjol y maní, las cepas fueron caracterizadas fenotípica y genéticamente. Las cepas de la bacteria asociada a las otras leguminosas no se caracterizaron en este estudio, por cuanto existen trabajos previos que incluyeron ésta fase, y además porque tanto el fréjol y el maní son leguminosas cuyos centros de origen están localizados en América del Sur, siendo el Ecuador uno de los principales centros de origen del fréjol. Para la caracterización fenotípica se incluyeron las siguientes pruebas: tiempo de crecimiento, morfología de colonias, acidificación o alcalinización del medio, crecimiento en diferentes fuentes de C y N, tolerancia a antibióticos y a metales pesados. Utilizando índices de similaridad se generaron dendogramas que sirvieron para determinar el grado de relación (parentesco) entre cepas. En el caso del *Rhizobium* asociado al fréjol se pudo determinar que las cepas del Ecuador difieren de las cepas de Mesoamérica, ambas regiones consideradas como principales centros de origen. Estos resultados fueron corroborados por estudios moleculares, evidenciándose un grado de especificidad entre cepas y sus macro-simbiontes. Este hecho tiene implicación en el campo, por cuanto los inoculantes para cada región deben ser elaborados utilizando cepas nativas que se asocien efectivamente con las variedades locales de fréjol.

En cuanto a la caracterización genética para el *Rhizobium* de fréjol se utilizó la técnica BOX-PCR. Para las cepas de maní se utilizaron las técnicas PCR-ERIC y REP, y adicionalmente la técnica PCR-RFLP de la región intergénica *16S-23S rRNA* utilizando enzimas de restricción. Los resultados en maní demostraron que la población del microsimbionte (bacteria) es heterogénea a nivel de sitio de aislamiento, presentando gran diversidad, existiendo aislamientos de crecimiento lento y de crecimiento rápido, aparentemente incluida dentro de dos géneros.

Para la estimación del potencial fijador de N se llevaron a cabo experimentos tanto bajo condiciones controladas (invernadero) y en campo. Se tomaron en consideración los siguientes parámetros: a) nodulación, b) masa vegetal, c) porcentaje de N, y d) rendimiento (kg/ha en campo). En arveja las cepas con mayor capacidad de fijación del N, fueron: ECUA-I1, ECUA-Z2, ECUA-P3. En fréjol: UMR 1478, UMR 1481, UMR 1468. En alfalfa: UMR 6008, TAL

380. En soya: CIAT 51, UMR6001, ECUS-001, ECUS1-SJ. En maní: ECUM-L 102, ECUM-P8-6. Las mejores cepas fueron estadísticamente similares al tratamiento N en rendimiento y porcentaje de % N, y superiores al testigo absoluto (0).

En fréjol también se llevó a cabo el estudio sobre competitividad de las cepas UMR 1468 (*R. etli*), UMR 1478 (*R. etli*) y UMR 1899 (*R. tropici*) a través de serología. Después de obtener el antígeno y el antisuero en conejos, se llevó a cabo un experimento de campo para identificar la cepa de mayor competitividad por nodulación. La cepa UMR1478 aislada en el sur del Ecuador resultó ser la de mayor agresividad y conociendo su grado de efectividad en fijación de N, fue recomendada como cepa inoculante para ser utilizada por los agricultores de las zonas frejolerías del sur del Ecuador (Cañar, Azuay y Loja).

Otro estudio tuvo como objetivo seleccionar el mejor sustrato que sirva como portador de la bacteria en el inoculante. Los sustratos elegidos como alternativas de portadores fueron: turba de Alaska, turba de Lloa, turba del Chimborazo, compost, vaina seca de fréjol molida combinada con compost (relación 3:1), capa rosa, zeolita, y ceniza. Se realizó el análisis físico-químico de los sustratos para determinar sus propiedades. La capa rosa, zeolita, y ceniza fueron utilizados en el estudio por cuanto algunas casas comerciales que disponen entre sus productos, de bio-fertilizantes, aseguran que estos sustratos son aptos para retener y mantener la viabilidad de algunos microorganismos del suelo como las bacterias, por periodos de hasta un año. Por lo tanto, se incluyeron estos tres sustratos para corroborar o no con lo enunciado por los comerciantes.

Los resultados demostraron que la turba proveniente de la provincia de Chimborazo presentó características físico químicas apropiadas, y la más alta concentración bacteriana, a los 120 días de evaluación (10^8 cel/g de turba). Esta turba, resultó la mejor portadora de la cepa *R. etli* UMR 1478, la misma que presenta excelentes cualidades simbióticas con el fréjol de altura, tanto en eficiencia como en compatibilidad. La turba de la provincia del Chimborazo puede utilizarse para la elaboración del inoculante de fréjol voluble, pero enfatizando que no es un soporte que permite la viabilidad de la bacteria más allá de los cuatro meses de almacenamiento, bajo condiciones controladas de temperatura, lo cual debe tomarse en cuenta como recomendación al agricultor. Así mismo, esta turba debería probarse como soporte de cepas eficientes para otras leguminosas. Se recomienda además seguir experimentando otros sustratos (ej. bagazo, vermiculita, etc.) en la viabilidad del *Rhizobium*, ya que no es aconsejable limitarnos al uso de un recurso natural escaso, como es la turba. En cuanto a la zeolita, ceniza y capa rosa de acuerdo a los resultados, no deberían ser recomendadas como buenos portadores de *Rhizobium*, al menos tal como los comerciantes indican.

Al momento, el INIAP dispone de las cepas eficientes pertenecientes a cada una de las leguminosas involucradas en el estudio, y también de un stock de turba proveniente de la Provincia de Chimborazo. La difusión de los resultados del proyecto ha permitido que el número de agricultores que usan inoculantes, incrementa, comprobado mediante diagnósticos realizados en la Provincia del Cañar (comunidad Virgen de la Nube). La difusión también se ha realizado a través de eventos nacionales e internacionales. Paralelamente al proceso de investigación, el proyecto fue implementando el laboratorio de Microbiología de Suelos en el DNPV-EESC, con equipos, reactivos y material, necesarios para la conservación y manejo no solamente de *Rhizobium* sino también de otros microorganismos benéficos para la agricultura.

Investigación en otras asociaciones simbióticas fijadoras de nitrógeno.

Anabaena- Azolla.

La Escuela Politécnica del Litoral (ESPOL) llevó a cabo un estudio en la asociación *Anabaena - Azolla* cuyo propósito principal fue la aplicación de los simbioses como abono verde para el

cultivo de arroz en el Litoral Ecuatoriano. Se utilizó la especie nativa: *Azolla caroliniana* Willd., la misma que tiene una composición de 7.02 % N, 37.5% de proteína, y con un contenido de 17 aminoácidos. Se utilizó las variedades: INIAP 12 e INIAP 14 (invierno y verano), dando un rendimiento de 7.77 t/ha (cultivo de invierno), lográndose un aumento del 55.6 % versus el tratamiento del cultivo con urea. Este estudio no determinó la capacidad de fijación de N por parte del material simbiótico *Anabaena-Azolla*.

BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR: PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA)

1. Azospirillum.

En el Ecuador, se llevó a cabo el estudio sobre la caracterización y selección de cepas de la bacteria diazotrófica *Azospirillum* asociada con el maíz de altura (*Zea mays* L.), y ejecutado entre el Departamento de Biología de la Universidad Central y el INIAP (DNPV-EESC). El estudio determinó la presencia de cepas nativas en suelos de distintas zonas maiceras de la Costa y Sierra del Ecuador, caracterizó fenotípicamente las cepas, y evaluó el potencial como promotoras de crecimiento vegetal en tres variedades de maíz de altura, bajo condiciones controladas.

La fase de laboratorio permitió identificar una cepa perteneciente a la especie *Azospirillum lipoferum* por las características que presentó en el medio específico para esta especie y en las pruebas bioquímicas complementarias, lo cual fue corroborado por el Instituto de Ecología y Sistemática de la Habana, Cuba. En cuanto al efecto de las cepas en el crecimiento vegetal, y de acuerdo a los parámetros analizados, se encontraron resultados que permitieron identificar a la cepa T3 (proveniente de la Provincia de Tungurahua) como la más eficiente, por cuanto en las variables: altura de la planta, peso fresco y seco de la planta, y peso de raíz produjo los valores más altos, y en la variable peso seco de raíz no se diferenció significativamente de la mejor (T2). Otra cepa de interés fue la T2 (también de Tungurahua) que si bien es cierto no tuvo valores altos en la mayoría de parámetros, sin embargo estadísticamente fue similar a los mejores tratamientos. Esta cepa produjo el mayor volumen y mayor peso fresco de raíces (36.78 g), lo que bien pudo haber estado relacionado con la producción de hormonas de crecimiento vegetal, posiblemente auxinas y giberelinas. La cepa patrón *Azospirillum brasilense* Sp 7 no tuvo resultados positivos en el crecimiento de las 3 variedades de maíz de altura evaluadas. En relación a las variedades, la variedad de maíz INIAP 102 presentó los promedios más altos en altura de la planta (37.57 cm), peso de materia verde (43.32 g), peso de materia seca (17.33 g), peso fresco de raíces (34.12 g), y peso seco de raíces (8.87 g).

Este estudio recomendó: a) identificar todas las cepas a nivel de especie, b) determinar la producción de hormonas de crecimiento vegetal por parte de las cepas que mostraron mejores resultados afectando positivamente en el crecimiento del maíz, y su identificación, c) realizar ensayos de invernadero por un periodo de duración superior a los dos meses para verificar el incremento significativo en el crecimiento vegetal, d) estudios de especificidad y competitividad a nivel de campo, e) asociar el estudio a otros organismos del suelo que también son estimuladores de crecimiento vegetal como la bacteria *Azotobacter*, y asociaciones micorrizicas, y f) estudios dirigidos a la producción de inoculantes a base de *Azospirillum*.

2. Azotobacter

Existen estudios en el exterior demostrando el éxito de *Azotobacter* como inoculante de hortalizas y frutales. Los estudios indican entre algunas ventajas el ahorro de fertilizante nitrogenado (40%), floración temprana, fructificación, disminución del aborto floral (en condiciones de alta temperatura), disminución del ciclo de cultivo (15 días en tomate), bulbos de mayor peso y aumento del rendimiento en cebolla (25-40%). En un experimento con papa

(aplicaciones de 30 litros /ha de *Azotobacter* al suelo más 30 l/ha a los 30 días) el rendimiento fue de 43 T/ha versus 15.5 T/ha del control. En yuca (50% de la fertilización completa más inoculación de *Azotobacter* a la siembra) el rendimiento alcanzó 41.5 T/ha versus 23.7 T/ha del control (sin fertilizar y sin inocular). En el Ecuador, en un estudio realizado como tesis de grado por un estudiante del IASA, y utilizando tres cepas y varias concentraciones de la bacteria *Azotobacter*, se lograron incrementos significativos de rendimiento en brócoli.

3. *Bacillus*

En el Ecuador, dentro del proyecto COMMINANDES (Producción sustentable de papa en áreas peri-urbanas del Ecuador y Bolivia utilizando compost e inoculantes microbianos) ejecutado por el INIAP (DNPV-EESC) en consorcio con cinco instituciones de investigación del exterior y liderado por la Universidad de Lovaina (Bélgica), uno de los objetivos es identificar organismos promotores de crecimiento vegetal para que conjuntamente con el uso de las micorrizas, se apliquen como inoculantes en el compost elaborado por comunidades de agricultores dedicados a la producción de papa. Las especies de *Bacillus* aisladas en el Ecuador de suelos de zonas paperas, fueron identificadas a través del método MALDI-ToF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight) utilizando espectrometría de masas. Las especies identificadas fueron: *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. licheriformis*, *B. sphaericus*, *B. amyloliquefaciens*, y *B. megaterium*. Dentro de éstas especies se encuentran cepas promotoras de crecimiento vegetal que bien pueden utilizarse como inoculantes no solamente en el cultivo de papa.

4. *Pseudomonas*

Las especies de *Pseudomonas* aisladas en el Ecuador (zonas paperas) e identificadas a través del mismo método señalado para *Bacillus*, y dentro del Proyecto COMMINANDES, fueron: *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. oleovorans*, *P. syringae*, y *P. agarici*. Muchas cepas dentro de determinadas especies señaladas son consideradas también promotoras de crecimiento vegetal. Estudios adicionales de laboratorio y campo permitirán identificar cepas que podrían utilizarse masivamente como bio-protectores.

MICORRIZAS

Después de los estudios *Rhizobium* en leguminosas en Ecuador, seguramente los de micorrizas son los de mayor número. Se incluyen estudios realizados en soya y cacao (INIAP- ESPE-FUNDACYT), papa (INIAP-Comunidad Europea-Centro Internacional de la Papa), banano (ESPOL-Centro de Investigación Biotecnológica del Ecuador), palma aceitera (ANCUPA - INIAP), tomate (ESPE-IASA; U. Guayaquil), palmito (Universidad Técnica Equinoccial), especies forestales (U. Quevedo-FUNDACYT), orquídeas (Universidad Particular de Loja), cebolla de bulbo (IASA).

Los estudios ejecutados en el país han estado concentrados principalmente en la dependencia micorriza – cultivo (grado de infección), aislamiento, métodos de conservación, variabilidad fenotípica (ej. en papa, banano), caracterización genética, tiempos (instancias) de inoculación, evaluación de macro-nutrientes en la viabilidad de la micorriza arbuscular asociada al cultivo (ej. en papa), efectividad como bio-protectores o bio-fertilizantes, y en interacción con otros microorganismos (ej. con *Azotobacter*).

Merecen atención los trabajos liderados por la Escuela Politécnica del Ejército (ESPE) relacionados con la diversidad ecológica y el comportamiento funcional de hongos arbusculares asociados a ecosistemas naturales: bosque tropical: *Brosimum utile*, y páramo: *Polylepis incana* y *Polylepis pauta*, sistemas agrícolas: *Solanum betaceum*, y sistemas contaminados donde se

evaluó la tolerancia de los hongos arbusculares a condiciones de contaminación por metales pesados con énfasis en arsénico.

Otro estudio de interés es el efecto de agro-ecosistemas en la bio-diversidad, llevado a cabo entre el INIAP (DNPV-EESC) y la GTZ, como parte del proyecto BIOSYS de la Universidad de Goettingen y del

Ministerio de Educación e Investigación del Gobierno Alemán (BMBF). Concretamente se estudió el efecto de tres agro-ecosistemas, bajo dos tipos de suelo, en la población de grupos funcionales, en Manabí-Ecuador. Se utilizaron como sistemas: café (*Coffea* sp.) y cultivos de pastos y arroz (*Oriza sativa* L.). En el caso de micorrizas, el estudio determinó que éste grupo de organismos del suelo bien pueden emplearse como indicadores de la fertilidad de los suelos.

ANCUPA conjuntamente con el INIAP (DNPV-EESC) lleva actualmente el proyecto denominado “efecto del riego en la dinámica poblacional de organismos benéficos asociados al cultivo de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq)”, cuyo principal objetivo es evaluar el efecto del riego en la dinámica de organismos benéficos del suelo asociados a tres variedades Tenera. Los objetivos específicos son: a) establecer el efecto de riego sobre las diferentes poblaciones microbianas del suelo del cultivo de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq), y b) establecer el aporte de la población microbiana del suelo en la producción del cultivo. Se identificarán los siguientes grupos funcionales del suelo: población total de bacterias, población total de hongos, población total de actinomicetos, bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias celulolíticas, bacterias solubilizadoras de fósforo, y hongos micorrízicos. El proyecto busca a futuro la obtención de inoculantes microbianos, especialmente de micorrizas para utilizarlas a nivel de vivero que permita posteriormente el buen establecimiento de plantas sanas y vigorosas en el campo bajo sistemas de riego.

ABONOS ORGANICOS

Al revisar la literatura sobre investigación de abonos orgánicos realizados en el Ecuador, principalmente realizados en las universidades, se observa gran cantidad de trabajos relacionados con el tema. Desde el punto de vista de la investigación estrictamente hablando, se puede evidenciar que son pocos los que verdaderamente se han ejecutado bajo un rigor científico, aunque algunos estudios que no tienen profundidad en la investigación si han tenido impacto en la práctica, al generar productos (abonos) que han dado buen resultado en el rendimientos de ciertos cultivos. La mayoría de estudios no consideran aspectos básicos y fundamentales como por ejemplo el análisis de la calidad del abono incluyendo análisis químico (relación C/N, contenido de materia orgánica, pH, etc), análisis físico, y el análisis biológico (ej: presencia de organismos benéficos como PGPR's). Algunos estudio de aplicación y efecto en el rendimiento de cultivos, no consideran la cantidad de aplicación en el suelo, sabiendo que la cantidad está en función del tipo del suelo, estado fenológico del cultivo, requerimientos del cultivo, época de aplicación, etc. Otros aspectos fundamentales a considerar son: a) el tipo y calidad de los sustratos a utilizarse, b) el porcentaje de germinación de semilla en el producto final (compost), ya que algunos compost afectan la germinación por la generación de inhibidores, y c) la inocuidad (ej. presencia de *Salmonella* y otros contaminantes peligrosos para la salud).

Un proyecto que merece detallarse en el denominado Comminandes (www.ucc.ie/research/comminandes) que tiene como propósito principal la producción sustentable del cultivo de papa en zonas “peri-urbanas” del Ecuador y de Bolivia, utilizando compost combinado con inoculantes microbianos (bacterias promotoras de crecimiento vegetal y micorrizas). El proyecto trabaja en la comunidad Virgen de la Nube de la Provincia del Cañar, donde los productores elaboran como una práctica permanente el compost utilizando restos vegetales (residuos de las cosechas y de los mercados) y estiércoles de animales (vacas, caballos, cuyes, conejos, puercos, etc.)

Esta práctica se ha establecido también en la comunidad de Molobog (Licto), provincia del Chimborazo. Los productores de ésta comunidad normalmente utilizaban gallinaza traída desde la Costa y mezclada con gran cantidad de cáscara de arroz, para la fertilización de sus cultivos. La gallinaza por lo general se encuentra sin descomponerse, lo cual producía daños fisiológicos a la planta y/o enfermedades de la raíz. Por otro lado, la cáscara de arroz aumenta la cantidad de carbono en el suelo lo cual produce inmovilización del nitrógeno y otros nutrientes en el suelo, volviéndose la planta clorótica lo cual repercute en el rendimiento final de los cultivos. Para evitar estos problemas, primeramente se llevó a cabo un estudio cuyo objetivo fue identificar el mejor sustrato para la elaboración de un compost con propiedades físicas, químicas y biológicas aceptables, utilizando como sustratos principales el estiércol de ganado vacuno, la alfalfa y vicia que se los puede conseguir fácilmente y en cantidades apropiadas en la zona, evitando el empleo de la gallinaza contaminada con antibióticos. Utilizando estos sustratos se redujo además los costos de producción del abono.

El análisis físico-químico de los productos finales descompuestos (compost) se realizó en el Departamento de Suelos y Aguas de la Estación Santa Catalina del INIAP, y el análisis biológico se realizó en los laboratorios del Departamento Nacional de Protección Vegetal de la misma Estación Experimental. Para cada grupo de microorganismos se utilizó el apropiado medio de cultivo. El medio agar nutritivo para bacterias totales, rosa de bengala para hongos totales y agar caseína para actinomicetes.

Los resultados de los análisis evidenciaron un rango aceptable del pH del abono orgánico, con un promedio de 7.0. En general la relación C/N en el compost elaborado con cascarilla de arroz fue mayor que el compost elaborado a base de vicia (leguminosa), lo que indica la importancia de las leguminosas como fuente importante de nitrógeno ayudando a mejorar la concentración de este nutriente en el suelo y su disponibilidad para los cultivos. Este compost rindió un alto contenido de materia orgánica, observándose los valores más altos en los producidos con gallinaza. La gallinaza como tal (pura) es un excelente sustrato para combinarse con otros, mas no se recomienda aplicaciones directas al suelo especialmente en suelos compactos por su alto contenido de calcio, y por representar un portador de contaminantes.

El producto final demostró una concentración adecuada de hongos, y entre estos sobresalieron los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, y *Trichoderma*, dentro de los cuales sobresalen antagonistas de patógenos. Dentro de los actinomicetes hay que destacar la presencia de organismos celulolíticos que aceleraron el proceso de degradación del material orgánico. Las poblaciones de bacterias registraron valores más altos en los tratamientos con vicia. En general las leguminosas estimulan el crecimiento bacteriano debido a que representan una fuente mayor de N elemento esencial para el crecimiento bacteriano. La mayor población bacteriana con seguridad influyó en la descomposición rápida del material a base de vicia, acelerando el periodo en la producción de compost. Una vez muertas las bacterias su biomasa constituye una excelente fuente de nitrógeno liberado al suelo. También se identificaron los géneros de bacterias *Bacillus* y *Pseudomonas* como los de mayor población. Se conoce que dentro de estos géneros predominan cepas antagonistas contra patógenos. La adición al material en descomposición, de un producto considerado como “acelerador” del proceso de descomposición prácticamente no evidenció tal acción. Esto permite aseverar que el suelo fresco de páramo aplicado en pequeñas capas durante el proceso de compostaje, es suficiente como inoculante de microorganismos responsables de la descomposición, mas aun cuando los sustratos son fácilmente degradables como la vicia, alfalfa, y los estiércoles como el de ganado vacuno. Como recomendación del estudio, actualmente algunos comuneros de Licto están iniciando la elaboración del compost a base de restos de leguminosas, mezclado con estiércol de bovino, y una dosis baja de restos de cereales, incluyendo la cáscara de arroz. Según los últimos reportes, el compost ha dado excelentes resultados en el rendimiento no solo del cultivo de papa sino también de otros propios de la región.

CONTROL BIOLÓGICO

Trichoderma

La Escuela Politécnica del Chimborazo (ESPOCH) ha liderado muchos estudios de control biológico relacionados con *Trichoderma*. Al momento la ESPOCH dispone de inoculantes comerciales para uso en algunos cultivos.

El Departamento Nacional de Protección Vegetal (Estación Boliche) del INIAP, llevó a cabo estudios utilizando *Trichoderma harzianum* para el control de *Radopholus similis* en banano, con resultados satisfactorios. De igual manera el IASA, en el control de *Botritis cinerea* en mora. También el DNPV de la Estación Pichilingue en Quevedo trabaja actualmente en *Trichoderma* para controlar plagas del plátano, como parte del Proyecto CRSP.

Pasteuria penetrans

El INIAP a través del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Boliche en colaboración con las Universidades Técnica de Babahoyo (UTB), Técnica del Norte (UTN), y la Nacional de Loja (UNL), llevó a cabo un estudio para el control de *Meloidogyne* spp. (nematodo agallador de raíces), en los cultivos de tomate y fréjol, en la Costa Ecuatoriana y en los valles interandinos donde estos cultivos tienen importancia. En Ecuador el nematodo, se encuentra presente en todas las regiones, aunque las incidencias poblacionales más altas están en las zonas calientes, donde tienen ciclos biológicos de 21-30 día e índices de reproducción sobre los 1000 huevos. Los cultivos con mayores pérdidas económicas son las hortalizas, leguminosas y frutales. En general, los productores no detectan el problema antes de la siembra y cuando lo identifican se ven obligados a utilizar productos químicos que son peligrosos para la salud y el medio ambiente, y costosos.

Este proyecto tuvo como objetivos: a) determinar nuevas poblaciones de *P. penetrans* con amplia cobertura para el control de *Meloidogyne* spp., b) evaluar la eficacia de *P. penetrans* en nuevas zonas agrícolas (donde no existe en forma natural), c) desarrollar tecnología para el control de *Meloidogyne* con *P. penetrans* en campos de producción, y d) capacitar a productores en el control biológico. Los resultados permitieron identificar cinco aislamientos de *P. penetrans* con alta capacidad de infectar *Meloidogyne* spp. En tomate la reducción de la población (en 100 cm³ de suelo de Babahoyo) llegó al 90 % comparado con el testigo. El uso de *P. penetrans* redujo en buen porcentaje las poblaciones de *Meloidogyne* en cinco zonas agroecológicas del país y en diferentes cultivos. La rotación de cultivos favorece la multiplicación de la bacteria, y los agroquímicos utilizados para el manejo de insectos plaga y enfermedades no han afectado la multiplicación del agente benéfico. Esta tecnología biológica resultó ser económica, y además no afecta la salud de las personas que la manejan.

Bacillus subtilis y *Pseudomonas cepacea*.

El IASA llevó a cabo el estudio de control biológico contra la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (pudrición acuosa de la mazorca), utilizando como microorganismos antagonicos: *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacea*. Se utilizaron los cultivares: Nacional / Tenguel – 25 y la colección Castro Naranjal / CCN-51. Como resultados, los antagonistas redujeron la infección: 46 y 47 % en cacao Nacional, y 66 y 34 % en CCN-51 versus el testigo absoluto. Una ventaja de los antagonistas fue que resultaron ser tolerantes a dosis de aplicación de los fungicidas.

Beauveria, Baculovirus y Metarhizium.

El INIAP a través del DNPV-EESC llevó a cabo estudios como parte del Proyecto CRSP (Collaborative Research Support Program) con las Universidades de Virginia y Ohio. En papa se obtuvo resultados prometedores contra gusano blanco (*Premnotrypes vorax*), utilizando cepas de *Beauveria* sp. Contra la polilla de la papa (*Tecia solanivora*) se utilizó *Baculovirus* con asolación, y en tomate de árbol *Beauveria* y *Metarhizium* contra el cutzo (*Phyllophaga*).

BIOREMEDIACION

Existe muy poca información referente a estudios de bioremediación llevados a cabo en el Ecuador. Los reportes de los pocos estudios son muy superficiales y carecen de precisión principalmente cuando se refieren a los microorganismos utilizados y a la estrategia de decontaminación. Algunos reportes indican el uso de *Pseudomonas putida*, para la limpieza de petróleo derramado en suelos del Oriente y Costa Ecuatoriana. El uso de *Pseudomonas* sp., para la bioremediación de clorofenoles.

El informe del Proyecto PETRAMAZ (mostrado en Internet) llevado a cabo por el Departamento de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) indica el uso de “cepas nativas” a través de la estrategia del bio-aumento usando aminoácidos, vitaminas, minerales, etc. Como resultados, el informe enfatiza en la reducción de niveles de hidrocarburos, inferiores a 3000 - 5000 ppm, como producto del uso de microorganismos. También indica de una concentración que “está disminuyendo rápidamente”, inclusive en sitios de alta pluviosidad, pero sin precisar datos, y que “el carbono orgánico disminuye”, comprobándose que el proceso de mineralización de los hidrocarburos por acción de los microorganismos, está funcionando.

El informe del Proyecto de PETROECUADOR conjuntamente con ALFA LAVAL (mostrado también en el Internet), indica la recuperación de 100 mil barriles de mezcla de hidrocarburos residuales (fuel oil, asfaltos y otros hidrocarburos pesados) en un período de 18 meses. Adicionalmente anota que se ha logrado la remediación de alrededor 10 hectáreas de suelos del perímetro exterior de la Refinería de Esmeraldas.

Los resultados de éstos Proyectos de Bio-remediación en el Ecuador, aunque no son presentados al detalle, son ejemplos que permiten asegurar la importancia que tienen los diferentes grupos funcionales del suelo en la descomposición o degradación de peligrosos contaminantes que afectan significativamente los recursos naturales especialmente el suelo y el agua del trópico Ecuatoriano.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Si bien es cierto, ésta publicación presenta únicamente una revisión de los casos más relevantes dentro de cada área de la Microbiología de Suelos, éstos (estudios) permiten asegurar que la investigación en Microbiología de Suelos en el Ecuador es escasa. Sin duda el área de fijación biológica de nitrógeno ha sido el de mayor dedicación por los institutos de investigación agrícola en el Ecuador. Al momento el INIAP dispone de cepas (inoculantes) eficientes en fijación de N, para el uso por parte de los agricultores en los cultivos de maní, arveja, alfalfa, y soya. El banco germoplásmico de la bacteria se encuentra almacenado bajo condiciones de liofilización.

El área de micorrizas se encuentra en una situación de avance de las investigaciones, tratando de obtener cepas eficientes en el bio-control contra patógenos y como bio-fertilizantes. Es verdad que en el mercado existe una “gama” amplia de productos a base de micorrizas importadas del exterior, y de otros microorganismos con una versatilidad increíble y “milagrosos” a la vez.

Lamentablemente un buen número de éstos productos comerciales no funcionan bajo condiciones propias (ej. clima, suelo) del Ecuador, creando la necesidad de llevar a cabo proyectos nacionales de investigación específicos para cada región.

Los estudios en bacterias promotoras de crecimiento vegetal están en un estado de iniciación, caso por ejemplo estudios en *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* y *Azotobacter*. Los resultados escasos se refieren principalmente a la caracterización de los microorganismos. En ésta área se recomienda firmemente la investigación dirigida a establecer la eficiencia de bacterias y hongos como antagonistas de importantes patógenos especialmente del suelo, identificación de portadores de los microorganismos, que permitan mantenerlos viables por lo menos por un período de dos meses para la elaboración y uso de inoculantes.

En control biológico, si bien es cierto existe un significativo número de estudios, sin embargo pocos han tenido resultados positivos y pocos han sido difundidos y adoptados por el agricultor. Los estudios en abonos orgánicos realizados por universidades del país también son innumerables pero un significativo porcentaje de éstos son superficiales, incompletos y carecen de rigor científico. En bioremediación la investigación también es limitada y fácilmente se detecta que los estudios de ésta área carecen de un enfoque interdisciplinario sin la participación por ejemplo de agrónomos, microbiólogos de suelos, y fisiólogos vegetales.

La investigación en Microbiología de Suelos en el Ecuador sin duda requiere de estudios de mayor profundidad investigativa, con resultados que sean consistentes en el campo. En el caso de abonos orgánicos es preciso realizar análisis de calidad incluyendo pruebas químicas, físicas, y biológicas, que muestren rigor científico en la ejecución. Los estudios en todas las áreas merecen una mayor acción interdisciplinaria, e interinstitucional tratando de priorizar actividades y efectivizando los limitados recursos. Las tecnologías generadas necesitan ser adoptadas por el agricultor a través de un programa eficiente de transferencia y difusión.

Los aspectos prioritarios que necesitan ser investigados en el país incluyen: a) la selección de material germoplásmico en los organismos que presenten potencial como bio-protectores y bio-fertilizantes, b) caracterización fenotípica y molecular. Se requiere determinar características básicas de los organismos como por ejemplo el crecimiento en fuentes de carbono y de nitrógeno, tolerancia a la acidez, a la alcalinidad, salinidad, tolerancia a antibióticos y metales pesados. Es recomendable llegar a la identificación de los microorganismos en estudio, a nivel de especie. Y si las condiciones lo permiten lo ideal sería llegar a caracterizarlos a nivel molecular, c) determinación de la eficiencia ya sea como bio-protectores y/o como bio-fertilizantes, d) métodos de aplicación al suelo que permita la viabilidad y paliación practica por parte del agricultor, e) estudios de supervivencia de la cepa “inoculante” en el suelo bajo determinadas condiciones de clima y de suelo, y f) estudios de tolerancia a los “estrés”: bióticos (plagas) y abióticos (deficiencias nutricionales, acidez, sequía, etc).

Los estudios deberían también estar dirigidos a la interacción (recuperación de ecosistemas) entre microorganismos, por ejemplo la relación *Rhizobium* – Micorrizas – PGPR´s, organismos solubilizadores de P, abonos orgánicos: procesos aeróbicos vs., procesos anaeróbicos.

Otros estudios podrían incluir aspectos de biodiversidad funcional en ecosistemas, la diversidad como sensor de perturbaciones (prácticas agronómicas, suelos contaminados), estudios moleculares de las actividades fisiológicas y bioquímicas, generación de protocolos y metodologías de laboratorio, estudios de expresión de genes que codifican para actividades de interés, marcadores moleculares, etc.

Para iniciar una investigación será necesario: a) priorizar las actividades, b) una mejor coordinación interinstitucional en proyectos interdisciplinarios, c) alianzas de investigación distribuyendo actividades de acuerdo a la fortaleza de cada institución, d) generación de

proyectos consensuados (interdisciplinarios y participativos), y e) personal capacitado de acuerdo a la naturaleza de los estudios.

Otras necesidades incluyen: a) la incorporación de la disciplina de Microbiología de Suelos en los programas de estudios de las facultades de ciencias agropecuarias. No se puede hablar en las universidades de agricultura sostenible, agricultura orgánica, agricultura alternativa, etc., sino se incluyen disciplinas básicas que impartan conocimiento que vaya dirigido a resolver los problemas actuales de la agricultura, como la degradación y erosión de suelos, desertificación, salinidad, acidez, contaminación por metales pesados, plagas cada vez más tolerantes a los pesticidas, problemas ambientales, etc.

Se requiere también la estandarización de metodologías especialmente de laboratorio, y la incorporación de nuevas técnicas a utilizar, diferenciándose de las rutinas de investigación. Finalmente es necesario disponer de equipos nuevos y apropiados para la investigación principalmente de carácter básico, y de referencias de bibliografía actualizadas y de rigor científico.