

Laboratorio de Microbiología del Suelo abre nuevos horizontes de investigación en suelos y fisiología vegetal en Cenipalma

Tania Galindo Castañeda MSc.¹ Hernán Mauricio Romero Ph.D.^{1,2}



Notas del Director

Con el conocimiento sobre los factores físico-químicos del suelo se han logrado importantes avances en el desarrollo de prácticas agronómicas favorables para aumentar la productividad de la palma de aceite en Colombia. Sin embargo, en los últimos años se ha visto que los factores bióticos, especialmente la presencia de microorganismos en el agroecosistema, juegan también un papel determinante en la productividad.

El agroecosistema de la palma de aceite mantiene complejas redes de microorganismos asociados, de tal manera que un desequilibrio en la dinámica de éstas puede llevar a la ocurrencia de enfermedades causadas por hongos, bacterias o protozoos. A la vez, el equilibrio de éstas puede favorecer o no la presencia de microorganismos benéficos que aumentan la eficiencia de la fertilización y modifican las tasas de degradación de la biomasa residual.

A través de microorganismos solubilizadores de fosfatos, hongos formadores de micorrizas y fijadores biológicos de nitrógeno es posible aumentar la eficiencia de la fertilización y a través de microorganismos degradadores de lignina y celulosa se puede lograr un aumento de las tasas de degradación de

Introducción

El suelo es un sistema complejo que debe ser estudiado y manejado de forma integral, considerando procesos químicos, físicos y biológicos en el tiempo y en el espacio. Concientes de la necesidad de incluir análisis y estudios del componente microbiológico de los suelos palmeros en Colombia, se abre la línea de investigación en Microbiología del Suelo en Cenipalma. El Laboratorio de Microbiología del Suelo, ubicado en la Zona Oriental palmera, Hacienda Santa Bárbara, Municipio de Cumaral, Meta, tiene como principal objetivo generar conocimiento básico acerca de la

la biomasa residual. Así mismo, al determinar la estructura de las comunidades de microorganismos se pueden identificar suelos supresivos o conductivos de enfermedades.

En este contexto Cenipalma ha emprendido investigaciones encaminadas a conocer y manejar los microorganismos del suelo, dando la relevancia que merece el componente biológico en el estudio del suelo y de la fisiología de la palma mediante una visión ecosistémica del cultivo. Para ello ha establecido un laboratorio especializado en el análisis microbiológico del suelo para realizar análisis de la calidad de bioinsumos relacionados con la fertilización (biofertilizantes), utilizados por la palmicultura. Esto es necesario si se tiene en cuenta que existen muchos productos en el mercado que no cumplen con las características mínimas de calidad y que no son evaluados antes de hacer grandes aplicaciones en campo.

Atentamente,
José Ignacio Sanz Scovino, Ph.D.
 Director Ejecutivo de Cenipalma

¹ Programa de Biología, Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma. tgalindo@cenipalma.org

² Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. hromero@cenipalma.org

interacción palma-suelo- microorganismos. Grupos de microorganismos del suelo tan importantes como los hongos formadores de micorrizas arbusculares, hongos y bacterias solubilizadores de fosfatos, bacterias fijadoras de nitrógeno, microorganismos antagonistas de patógenos del suelo y degradadores de materia orgánica, se están aislando, estudiando y probando dentro del agroecosistema de la palma. El estudio de las finas interacciones a nivel microscópico y molecular en la raíz, observadas en sistemas controlados (incubadoras de plantas, invernadero y vivero), así como bioensayos y aplicaciones en campo, permitirá establecer las verdaderas bondades de la aplicación de bioinsumos dentro del paquete tecnológico recomendado por Cenipalma para el manejo del cultivo.

De esta investigación se espera obtener herramientas prácticas y aplicables, con un robusto soporte científico, para el uso eficiente del recurso biológico del suelo asociado al cultivo de la palma de aceite.

Aislamiento y caracterización de micorrizas de palma

De las investigaciones realizadas por Cenipalma, entre 1999 y 2001, con micorrizas arbusculares asociadas a palma se determinó que la inoculación con hongos formadores de micorrizas arbusculares podría aumentar los contenidos de nutrientes (N, Cu, P, K y B) y la acumulación de biomasa aérea (305 % más que en las plantas no inoculadas) después de 19 meses de la inoculación con una mezcla de esporas de los géneros *Gigaspora* y *Glomus* (Motta y Munévar, 2005).

Diferentes preguntas que quedaron sobre la mesa a partir de dichos resultados se están abordando actualmente en el Laboratorio de Microbiología del Suelo. Por ejemplo, ¿cuál es la afinidad de las plántulas de palma con algunas especies particulares de hongos formadores de micorrizas más comerciales? como por ejemplo *Glomus intraradices*, ampliamente distribuido y vendido dentro de los productos ofrecidos en el mercado nacional e internacional; esta pregunta es relevante teniendo en cuenta que la afinidad y eficiencia de la simbiosis cambia entre las diferentes especies del hongo y dependiendo de la planta hospedera. ¿Cuál es el efecto de las micorrizas sobre la estructura, biomasa y fisiología de la raíz? ¿En qué momento deben aplicarse los inoculantes micorrizógenos durante el desarrollo del cultivo? Es de esperarse que estas aplicaciones se hagan en vivero, cuando se inicia el crecimiento de las raíces de las pequeñas plántulas. Sin embargo, la ma-

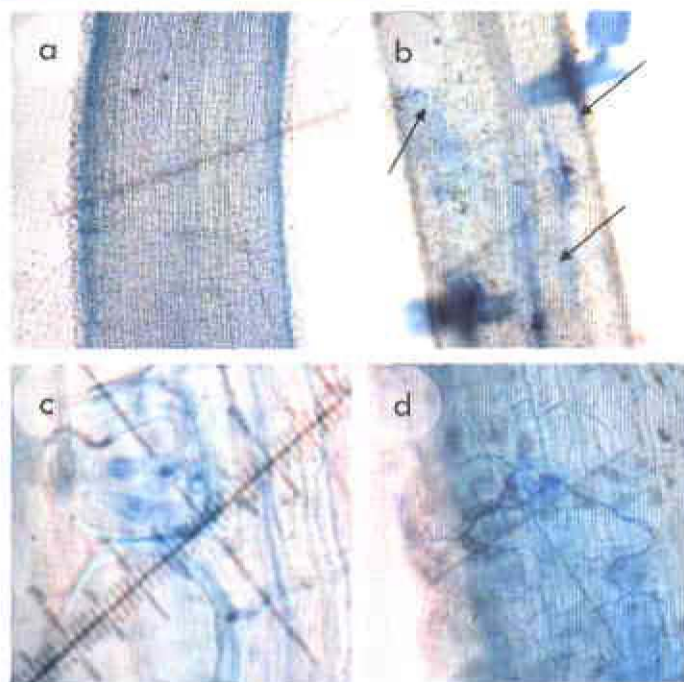


Figura 1. Infección radical en plántulas de palma de aceite en previvero por parte de hongos formadores de micorrizas arbusculares. Raíces extraídas de plántulas de *E. guineensis* después de un mes de siembra y de inoculación con *G. intraradices*. (a). Raíz terciaria no inoculada. Sin micorrizas 10x. Barra: 100µm (b). Raíz terciaria con inicios de puntos de infección (flechas) 10x. Barra: 100 µm (c). Detalle de arbusculo, estructura de intercambio de fotosintatos y nutrientes dentro de la pared celular de una célula de la raíz 100x. Barra: 10 µm (d). Detalle de hifas recorriendo los espacios intercelulares de las células de la raíz. 40x. Barra: 24 µm. Montajes semipermanentes, tinción ácida con tinta para estilógrafo.

yoría de plantaciones que utiliza micorrizas los aplica en el momento del transplante a vivero cuando las plantas ya vienen micorrizadas con especies nativas. Ahora bien, ¿cuál es la eficiencia de las micorrizas formadas con hongos nativos de nuestros suelos tropicales? ¿Cómo se puede optimizar el uso de micorrizas durante la etapa productiva de la palma?

Avances

Actualmente se está trabajando en la caracterización morfológica y fisiológica de la simbiosis de micorrizas de *Eleais guineensis* e híbrido OxG. Experimentos en invernadero con sistemas experimentales donde es posible observar raíces (rizotrones) serán la base para determinar el efecto de la inoculación con *G. intraradices* sobre la estructura radical de plántulas de palma de aceite. Se realizan paralelamente análisis microscópicos, microbiológicos y destructivos de raíz y parte aérea para caracterizar el efecto de la simbiosis.

Observaciones realizadas durante los últimos meses sugieren que el establecimiento de la simbiosis entre *G. intraradices* y *E. guineensis* ya se ha iniciado al mes de la inoculación en semillas en previvero (Figura 1). La detección molecular que se está planificando, en colaboración con investigadores expertos en biología molecular de micorrizas, confirmaría estas observaciones microscópicas. Otras especies de hongos se tendrán en cuenta para experimentos futuros.

Como parte del proceso de estandarización para el establecimiento de bioensayos en invernadero se estableció desde febrero de 2009 un experimento en el cual se seleccionarán inoculantes eficientes promotores de crecimiento vegetal. Resultados preliminares revelan que la aplicación de inoculantes micorrizógenos durante el trasplante a vivero tiene efectos positivos sobre la diferenciación foliar; a los cuatro meses de transplantadas las plantas inoculadas presentaron diferenciación foliar de dos hojas en promedio, en tanto que las no inoculadas escasamente habían diferenciado una de sus hojas (Figura 2). En este experimento es interesante observar el control absoluto, que consiste en suelo esterilizado al momento del trasplante y que no presentara en promedio ninguna hoja diferenciada al cuarto mes de trasplante a vivero.

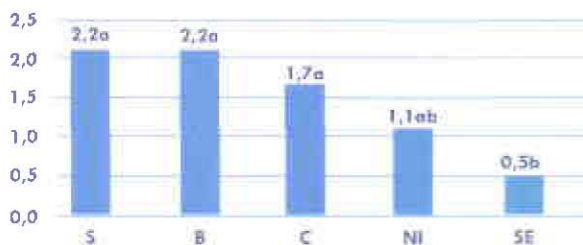


Figura 2. Efecto de la inoculación sobre el número de hojas diferenciadas. $n = 20$. Efecto de la aplicación (durante el trasplante) de tres productos micorrizógenos sobre el número de hojas diferenciadas. Las columnas representan el promedio de 20 réplicas (20 plantas). Lectura realizada en junio de 2009. Tratamientos con productos comerciales: S, C y B. Control absoluto (suelo esterilizado al inicio del experimento): SE. Control relativo (suelo no inoculado): NI. Las letras sobre las barras representan grupos estadísticos diferentes según prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Otras variables que se están midiendo (diámetro de bulbo, longitud total, número total de hojas, diferenciación foliar, tasas fotosintéticas, eficiencia en el uso del agua) no han presentado diferencias estadísticas significativas a los cinco meses en vivero. Cabe anotar que estas plantas no fueron inoculadas desde previvero, razón por la cual se espera en experimentos futuros demostrar diferencias más tempranas cuando se inoculen plantas desde la semilla.

Las herramientas metodológicas que se están probando son de sencilla aplicación en plantaciones; los análisis estadísticos realizados hasta el momento han permitido establecer que con un pequeño número de plántulas es posible evaluar la efectividad de inoculantes micorrizógenos comerciales. En Cenipalma se espera promover la realización de ensayos en campo por parte de plantaciones con el fin de que los mismos productores determinen si sus micorrizas, ya sea elaboradas en plantación o adquiridas en casas comerciales, son efectivas en sus plantaciones bajo las características particulares de suelos y materiales vegetales de cada una de ellas.

El Laboratorio de Microbiología del Suelo también tiene a cargo la complementación de la investigación de otros proyectos de Cenipalma. Experimentos del programa de Agronomía en el área de Suelos y Aguas se están complementando con el análisis de los microorganismos presentes en los diferentes tratamientos. Específicamente se está determinando el efecto de la labranza, la aplicación de enmiendas y el uso de bio-carbón sobre los microorganismos del suelo y el desarrollo de la simbiosis micorrícica en raíces de planta joven de renovación en la Zona Oriental (Figura 3).



Figura 3. Muestras de suelos de experimentos de campo son traídas al invernadero para propagar microorganismos del suelo en plantas trampa. El efecto de la inoculación de microorganismos sobre el desarrollo de la raíz de plántulas de palma se monitorea en rizotrones (parte de atrás en la fotografía).

Microorganismos solubilizadores de fosfatos y fijadores de nitrógeno

El estado del arte del estudio de este grupo de microorganismos y su utilidad en palma de aceite es mucho más escaso. Hay una ausencia de publicaciones referentes al uso de estos microorganismos en el cultivo en Colombia y una muy baja cantidad de referencias internacionales. Hasta el momento se conocen los trabajos de Amir *et al.* (2001) en los que se reportan aumentos de 30% en raíz

y 60% en tallo con la aplicación de la bacteria fijadora de nitrógeno; y Adiwiganda y Goenadi (2002) quienes obtuvieron 36% en la disminución de costos por fertilización al aplicar microorganismos solubilizadores de fosfatos. En el Laboratorio de Microbiología del suelo se recién se inició la construcción de un banco de microorganismos aislados de suelos cultivados con palma de aceite con miras a seleccionar microorganismos que solubilicen más de 300 mg/mL de fosfato en medios líquidos, así como bacterias fijadoras de nitrógeno que nodulen plantas de cobertura leguminosas, o bien bacterias que estén estrechamente asociadas a las raíces de palma que fijen nitrógeno aumentando la biodisponibilidad del nutriente para las palmas (Figura 4).



Figura 4. Medios de aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosfatos. El medio SRS (Sundara Rao y Sinha, 1963) modificado permitirá seleccionar microorganismos que crezcan con fuentes de fósforo no solubles. En la fotografía se muestran una colonia que acidifica el medio SRS (posiblemente con ácidos orgánicos) solubilizando a su alrededor el fosfato de aluminio insoluble.

Avances

Se han obtenidos algunos microorganismos solubilizadores de fosfatos provenientes de suelos asociados al cultivo de palma en la Zona Oriental. El aislamiento se ha hecho en medios selectivos donde crecen preferiblemente microorganismos que usan fuentes de fósforo insoluble; en dichos medios de cultivo se están utilizando fuentes de fosfato similares a las que se encuentran en suelos utilizados en el cultivo (fosfatos de aluminio y fosfatos de hierro).

Colaboradores externos del Laboratorio de Microbiología del Suelo

Con el fin enriquecer la investigación con la experiencia y trayectoria de diferentes grupos de investigación y entidades relacionadas con la palmicultura y producción de bioinsumos, se han consultado asesores nacionales e internacionales de diferentes entidades, algunos de ellos expertos en micorrizas en suelos tro-

picales cuyo trabajo se realizó en el programa de suelos del CIAT. Algunas plantaciones pioneras en el uso de bioinsumos se han unido a las investigaciones de microbiología del suelo en Cenipalma. Investigadores de Ancupa de Ecuador han manifestado su apoyo a la labor que se inició con el estudio de la microbiología del suelo en palma mediante la posibilidad de hacer investigaciones que confirmen los resultados que en ese país se han ido generando desde 2007.

De otro lado, se espera incrementar paulatinamente el banco de microorganismos y caracterizar las especies de los microorganismos seleccionados como promisorios promotores de crecimiento vegetal de la palma. La caracterización molecular de estos microorganismos se hará en colaboración con el Laboratorio de Biología Molecular del Campo Experimental Palmar de La Vizcaína, dando así mayor alcance a las investigaciones originadas en el Laboratorio de Microbiología del Suelo.

Estas iniciativas de investigación, la infraestructura generada y la aplicación del conocimiento técnico-científico que se aplica a los trabajos mencionados, contribuyen para en un futuro ofrecer tecnologías apropiadas para el uso sostenible de los microorganismos del suelo, teniendo como base de resultados de investigaciones robustas y bien documentadas disponibles para el gremio palmicultor.

Referencias bibliográficas

Adiwiganda, Y.T.; Goenadi, D.H. 2002. The use of EMAS BIO Fertilizer for oil palm. *Memorias: International Oil Palm Conference*. Nusa Dua. Bali.

Amir, H.G.; Shamsuddin, Z.H.; Halimi, M.S.; Ramlan, M.F.; Marziah, M. 2001. Effects of *Azospirillum* inoculation on N₂ fixation and growth of oil palm plantlets at nursery stage. *J Oil Palm Res.* 13(1): 42-49.

Motta, D.; Munévar, F. 2005. Respuesta de plántulas de palma de aceite a la micorrización. *Palmas (Colombia)* 26 (3):11-20.

Sundara-Rao, W.V.B.; Sinha, M.K. 1963. Phosphate dissolving microorganisms in the soil and rhizosphere. *Indian J Agric Sci* 33:272-278



Director: José Ignacio Sanz Scovino, Ph.D.
 Revisión de textos: Comité de Publicaciones de Cenipalma
 Coordinación editorial: Patricia Bozzi Angel
 Diseño y diagramación: Area 51 Publicidad y Comunicación Ltda.
 Impresión: Javegraf

Esta publicación contó con el apoyo de Fedepalma - Fondo de Fomento Palmero