El desarrollo de la microbiología del suelo en la palma de aceite en Ecuador

Development of soil microbiology in oil palm in Ecuador

Autor

Ramón Gustavo Bernal
Director de investigación
Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Africana
Ancupa
gusrbg@yahoo.com

Palabras CLAVE

Nutrición mineral, microoganismos del suelo, microbiología, palma de aceite, Ecuador

Mineral nutrition, soil microorganisms, microbiology, palm oil, Ecuador

Resumen

El manejo inapropiado de la palma aceitera en el Ecuador, relacionado con la fertilización (tipo, dosis, época de aplicación, y sitio de aplicación), afecta considerablemente los rendimientos, y por otro lado, los altos costos y/o la carencia de los fertilizantes, crean la necesidad de buscar nuevas alternativas para la nutrición apropiada del cultivo. Conociendo la importancia de los microorganismos del suelo en la nutrición mineral de los cultivos, es dable preguntarse si las tecnologías microbiológicas podrían caber en el manejo de la palma aceitera, cultivo muy exigente en nutrientes para la producción significativa de aceite, y más aun cuando el historial de las investigaciones en Microbiología de Suelos, indica que un buen número de estudios buscando alternativas biológicas, no han arrojado resultados exitosos que puedan ser usados en la práctica. ANCUPA lleva a cabo estudios con el objetivo de identificar microorganismos que puedan utilizarse como biofertilizantes, y que formen parte del manejo integral, asegurando el vigor y en consecuencia la adaptación de la palma.

Abstract

The inappropriate management of oil palm in some plantations of Ecuador, related to fertilization practices (type, doses, timing and place of application), affects yields substantially. On the other hand, the high prices and/or the shortage of fertilizers, create the need to find new alternatives for proper crop nutrition. Knowing the importance of soil microorganisms in the crop mineral nutrition, one wonders whether microbiological technologies are applicable to oil palm management, since it is a very nutrient-intensive crop, and even more so when the research history in Soil Microbiology has shown that a significant number of studies on biological alternatives have not yielded results that can be used in practice. ANCUPA undertakes studies to identify microorganisms that can be used as bio-fertilizers, and be part of the integral crop management, to ensure the vigor and adaptation of the oil palm.

Introducción

El cultivo de la palma de aceite en Ecuador es muy importante desde el punto de vista económico y social, y por su uso potencial como biocombustible. Infortunadamente, el rendimiento del cultivo es todavía muy bajo con un promedio de 2.5 t aceite/ha (Ancupa, 2006). Una de las razones del bajo rendimiento es el manejo inapropiado del cultivo, principalmente la nutrición mineral. El cultivo de la palma de aceite demanda grandes cantidades de nutrientes (Hartley, 1988), especialmente cantidades más balanceadas si se quiere lograr un crecimiento óptimo y altos rendimientos (Donough, 2008). Además, las mejores prácticas de manejo de nutrientes (fertilizantes) deben armonizar con las otras prácticas agronómicas, dando una combinación óptima de productividad, rentabilidad, sostenibilidad y ambientes biológicos y sociales (Bruulsema *et al.*, 2008).

Según estos autores, las mejores prácticas de manejo de fertilizantes básicamente involucran la selección eficiente de la fuente, dosis, época y sitio de fertilización, interconectado todo con las otras prácticas agronómicas de manejo, con énfasis en la necesidad de determinar todas las formas "nativas" de nutrientes del suelo disponibles para el cultivo. Infortunadamente, el manejo de estos factores en las plantaciones de palma de aceite en Ecuador es, en muchos casos, inapropiado y, por otra parte, los altos precios o escasez de fertilizantes crean la necesidad de investigar nuevas alternativas para la nutrición eficiente del cultivo.

Con estos antecedentes, uno de los principales objetivos del Programa de Investigación de Ancupa es buscar alternativas tecnológicas que contribuyan principalmente con el manejo racional del cultivo, involucrando fuentes tanto inorgánicas como biológicas y, al mismo tiempo, tratando de conservar el recurso del suelo y su diversidad microbiana.

En el componente biológico del suelo, los microorganismos juegan un papel fundamental en el proceso de mineralización (por ejemplo bacterias) y solubilización (por ejemplo, simbiosis micorrízica) de nutrientes, afectando la capacidad catiónica de cambio (CCC), las reservas de nitrógeno, azufre y fósforo, la acidez del suelo, toxicidad, capacidad de retención de humedad, características físicas del suelo, etcétera. Al conocer los beneficios e importancia de cómo los microorganismos del suelo contribuyen a la nutrición mineral de las plantas, uno se puede comenzar a preguntarse si las tecnologías biológicas tienen cabida como parte del manejo integral de la palma de aceite, y más si se considera que es un cultivo que demanda grandes cantidades de nutrientes para la producción de aceite.

Sin embargo, la investigación y las referencias bibliográficas nos permiten indicar un número significativo de estudios (nacionales e internacionales) relacionados con alternativas biológicas en la agricultura, que no han dado resultados satisfactorios que puedan ser usados en la práctica.

Además, cuando las metodologías y los resultados de estos estudios se analizan de cerca, la mayoría de ellos muestra procedimientos y protocolos superficiales que no consideran aspectos fundamentales que son cruciales para el proceso de investigación. Por ejemplo, no se considera la diversidad de los microorganismos; la diversidad o la heterogeneidad de un sistema significan que diferentes tipos de microorganismos trabajan juntos en una comunidad biológica.

En cada tipo de microorganismos (las mismas especies), la diversidad también puede ser considerable, como las bacterias fijadoras de nitrógeno o las rizobacterias promotoras del crecimiento, o las micorrizas, que son asociaciones simbióticas entre las raíces de la mayoría de los cultivos y ciertos hongos benéficos del suelo que pertenecen a diferentes clases (Sylvia, 1998), actualmente llamados "micorrizas" (Bernal y Morales, 2006a). Estos pueden actuar como biofertilizantes o como bioprotectores produciendo antibióticos contra los patógenos del suelo. La diversidad permite que algunos microorganismos trabajen más eficientemente que otros, por lo que es importante evaluar el número de cepas para conocer las más eficientes de acuerdo con el interés que se está buscando.

La especificidad en la interacción entre los microorganismos y sus huéspedes es otro factor importante que debe ser considerado. Aún dentro de plantas de la misma especie pueden existir diferentes variedades con diferente habilidad para interactuar con la misma cepa del microorganismo como, por ejemplo, una cepa de *Rhizobium* versus diferentes variedades de la

misma especie de leguminosa, como *Pueraria*. En el caso del hongo *Beauveria bassiana*, existen muchos genotipos que probablemente evolucionaron con su insecto huésped (Beretta *et al*., 1998; Castrillo y Brooks, 1998), creando cierto nivel de especificidad, aunque Bidochka, Menzies y Kamp (2002) indican que el hábitat es el principal factor que afecta la estructura de la población tanto de *Beauveria* como de *Metarhizium*.

En algunas relaciones, aunque la especificidad no es significativa, es importante distinguir la habilidad innata de colonización, la capacidad de infección (la cantidad de colonización), y la eficiencia (la respuesta de la planta a la colonización). En el caso de las micorrizas, existen grandes diferencias en el nivel de colonización que produce un sistema radical, lo mismo que en el impacto en la absorción de nutrientes y el crecimiento de la planta. Por tanto, la especificidad es un factor fundamental para las aplicaciones de campo, donde las respuestas del huésped difieren según la especie de microorganismo. En el caso de palmas nativas, existen especies como *Coccothrinax readii* (nativa de México), que no crea asociaciones con las micorrizas, y la especie *Thrinax radiata* que necesita la asociación.

El estado nutricional del suelo es otro factor importante que se debe tener en cuenta cuando se estudian los microorganismos del suelo. Por ejemplo, el nitrógeno aplicado en dosis mayores a 25 kg N/ha afecta seriamente el proceso biológico de fijación de nitrógeno de las bacterias fijadoras de nitrógeno, como las que pertenecen a los géneros *Rhizobium* ó *Brdyrhizobium,* que se asocian con la leguminosa *Pueraria*.

El fósforo aplicado en exceso afecta el nivel de infección de la planta por las micorrizas, lo que es más evidente en los suelos de las zonas templadas. La reducción de la colonización de micorrizas en las raíces se debe a la fertilización excesiva (Abott y Robson, 1991; Bethlenfalvay, 1992; citado por Hamel, 1996), que ha sido la principal causa de la creencia errónea que las micorrizas no funcionan en suelos fértiles. Los suelos tropicales fijan el fósforo debido a sus propias características, y bajo esta situación, se requiere una aplicación apropiada de micorrizas para facilitar la absorción de nutrientes por parte del cultivo o la solubilización para los microorganismos. Esto también es necesario en suelos que sufren estaciones de sequía, cuando el fósforo es limitado.

El potencial de los microorganismos nativos, su abundancia y vigor, es otro factor que, en general, es ignorado en los estudios de microbiología del suelo, especialmente aquellos que buscan introducir microorganismos foráneos considerados eficientes (biofertilizantes o bioprotectores). Los organismos nativos pueden presentar altas poblaciones y competitividad para colonizar la rizosfera, o para infectar las raíces, excluyendo oportunidades para que los "nuevos" microorganismos puedan interactuar con el cultivo. En algunos casos, los microorganismos nativos también pueden ser ineficientes desde el punto de vista nutricional, o como protectores de la planta, lo que sin duda genera resultados negativos. Si su presencia es ignorada, los resultados negativos pueden ser atribuidos a los nuevos (foráneos) microorganismos y esto puede empeorar si no existen técnicas apropiadas para la identificación de cepas.

Más aún, se ignora que los nuevos microorganismos muchas veces vienen de sitios con condiciones diferentes de clima y suelo, en comparación con los sitios donde se van a utilizar. Las condiciones químicas, físicas y biológicas del suelo donde se introduce un microorganismo foráneo, lo mismo que las condiciones climáticas (por ejemplo, temperatura, humedad, etc.) son, en muchos casos, incompatibles con la fisiología del nuevo microorganismo, por lo que la adaptabilidad a las nuevas condiciones se reduce considerablemente, disminuyendo las posibilidades de ser utilizados como inóculos microbianos. En el caso de la región de San Lorenzo (Esmeraldas), o en la región oriental de Ecuador (Amazonas) donde hay una época fuerte de lluvias, algunos sitios se inundan con frecuencia y es muy difícil adaptar microorganismos importados a estas condiciones de suelos muy húmedos, donde probablemente los microorganismos nativos tienen mecanismos de adaptación que les permiten tolerar niveles más altos de humedad, permaneciendo competitivos y persistentes.

Otro factor que afecta la sobrevivencia de los microorganismos en el suelo es el sistema de cultivo. Se ha hecho alguna investigación (Kurle y Pfleger, 1994; Wani. McGill y Tewari, 1991), que sugiere que los sistemas con bajo uso de insumos (labranza mínima,

cultivos de cobertura, bajo uso de fertilizantes químicos y pesticidas, etc.) pueden promover la colonización tanto de la rizosfera como del suelo, lo mismo que una alta población sostenible (por ejemplo, esporas) de microorganismos del suelo, en comparación con los sistemas con alta utilización de insumos. Los sistemas con baja utilización de insumos pueden afectar la composición de la comunidad microbiana, aumentando la diversidad y cambiando la abundancia relativa de especies.

Con relación a la labranza del suelo, cuando un suelo se altera físicamente, el potencial microbiano se reduce. En el caso de las micorrizas, la reducción podría estar relacionada, en ocasiones, con la relación negativa entre la intensidad de la labranza y la absorción de fósforo (McGonigle, Evans y Miller, 1990, citado por Hamel, 1996). La red que forman las micorrizas en suelos agrícolas, que es funcional para la formación de raíces después de la siembra, crea mayor absorción de fósforo por el cultivo cuando no hay alteración física.

La alteración del micelio de los hongos debido a la labranza reduce la eficiencia de absorción no solamente del fósforo sino también de otros nutrientes. Algo similar también puede suceder cuando el cultivador limpia alrededor de la palma utilizando un machete, lo que puede afectar en forma significativa el número y volumen de las raíces de la palma (especialmente terciarias y cuaternarias) y, por tanto, modificar la población, la funcionalidad y la absorción de nutrientes. Por otro lado, la labranza puede ejercer presión selectiva en las comunidades microbianas, estimulando la presencia de ciertas especies que no son necesariamente eficientes en la absorción de nutrientes, afectando el rendimiento del cultivo.

Algunos agroquímicos, como los herbicidas sistémicos, también pueden afectar los microorganismos (Hamel, 1996). Estos productos, aunque no son bactericidas ni fungicidas, pueden afectar la población y diversidad microbiana cuando las raíces de los huéspedes se eliminan, en especial los microorganismos eficientes que interactúan positivamente con el cultivo. Se recomienda no aplicar herbicidas y eliminar las malezas sin afectar el sistema radicular. Este método puede ayudar en forma significativa a mantener los microorganismos benéficos del suelo, lo que contribuye a la fertilidad del suelo, especialmente en sistemas donde no se utilizan cultivos de cobertura (Hamel, 1996).

Estudios biológicos relacionados con la nutrición de la palma de aceite

Ancupa comenzó los estudios microbiológicos en el año 2007, en cooperación con institutos de investigación nacionales e internacionales. Estos estudios buscan obtener un mejor entendimiento del comportamiento de los grupos funcionales del suelo (hongos que incluyen asociaciones de micorrizas, rizobacterias promotoras del crecimiento, actinomices, microorganismos solubilizadores de fosfatos, microorganismos celuloliticos, etc.), que se asocian con el sistema de la palma de aceite que incluye leguminosas de cobertura como *Pueraria*. A continuación se presenta un resumen de los resultados de la investigación llevada a cabo por Ancupa con relación a las asociaciones con micorrizas.

Estudio: comportamiento de la asociación con micorrizas con germoplasmas de palma de aceite en Ecuador

Existe evidencia de que las micorrizas juegan un papel importante en la absorción de nutrientes en el cultivo de la palma de aceite, especialmente de fósforo (P). Por ejemplo, en Malasia y en Indonesia se han reportado incrementos significativos en el rendimiento debido a la inoculación de micorrizas arbusculares en turba (Corley y Tinker, 2003).

Blal *et al.* (1990) reportó que la palma de aceite propagada en forma vegetativa puede aumentar el coeficiente de utilización de fertilizante entre 4 y 5 veces después de la inoculación de micorrizas, particularmente en la utilización de roca fosfórica. Por otro lado, es importante reconocer que la inoculación de micorrizas, incluyendo inóculos comerciales, se ha limitado principalmente a lotes experimentales, sin difusión importante hacia los agricultores, por lo menos en el sector palmero ecuatoriano.

Con estos antecedentes, Ancupa inició una investigación sobre la asociación de micorrizas nativas con el cultivo de la palma de aceite para desarrollar bioferti-

lizantes y bioprotectores para el cultivo. Para generar inóculos de micorrizas nativas es importante primero conocer el nivel de asociación con la planta huésped, y por esta razón, se realizó un estudio en conjunto con el Departamento de Biología de la Universidad Católica de Quito.

El objetivo de este estudio fue determinar el comportamiento de las micorrizas (nivel de infección) en el cultivo de la palma de aceite, lo mismo que para determinar en el futuro la eficiencia de las cepas de micorrizas en la absorción de nutrientes con énfasis en fósforo, y también en la protección de la planta contra patógenos del suelo en condiciones de vivero. La evaluación del comportamiento de las micorrizas incluyó: (a) el nivel endófito, (b) el porcentaje de colonización, (c) la población de esporas de micorrizas en el suelo, (d) la identificación de géneros de micorrizas.

Metodología

El estudio tiene dos fases: (a) la fase de campo que incluye la rizosfera (suelo y raíces) en las plantaciones de palma localizadas en diferentes zonas de la costa y en la región oriental de Ecuador, y (b) la fase de laboratorio llevada a cabo en el Centro de Investigación de la Palma de Aceite (Cipal) de Ancupa, ubicado a 37,5 km de la vía Santo Domingo-Quinindé. Las zonas palmeras de Ecuador donde se tomaron las muestras de rizosfera incluyeron: San Lorenzo, Quinindé, Las Golondrinas, El Sade, y La Concordia (provincia de Esmeraldas); Santo Domingo (Santo Domingo de las Tsachilas); Quevedo (Los Ríos); Joya de Los Sachas (Francisco de Orellana), y Shushufindi (Sucumbíos).

En cada sitio de toma de muestras de rizosfera se registraron las condiciones climáticas: humedad relativa, temperatura, precipitación e intensidad lumínica. Los datos se recolectaron de las estaciones meteorológicas más cercanas. Las muestras de suelos se llevaron al laboratorio de suelos de la Estación Santa Catalina (Iniap) para análisis físico y químico.

Las muestras de rizosfera se tomaron del siguiente germoplasma de palma de aceite: catorce cruces genéticos producidos por centros de investigación, tres cruces de los códigos 1001, 2501, híbrido interespecífico *E. guineensis* x *E. oleifera*, producidos por Cirad de Francia; Deli x La Mé X Ghana, clon compacto Sabre producido por ASD de Costa Rica; *E. guineensis* Dura Deli, Iniap comercial, *E. oleifera* Noli, DAMI comercial de Iniap; híbrido interespecífico *E. guineensis* x *E oleifera* Coari (Palmeras del Ecuador); híbrido interespecífico *E. guineensis* x *E. oleifera* Taisha (Palmar del Río), y *E. oleifera* Taisha (Palmar del Río, Ecuador).

Para determinar el nivel endófito o la intensidad de infección de micorriza, se utilizó una escala de 0 a 5 (Herrera, 1993). El porcentaje de colonización se determinó aplicando el método de "decoloración y tinción de raíz por aplicación de calor" (Herrera, 1993), que permite la observación de los componentes estructurales internos: micelio, arbúsculos y vesículas, que varía dependiendo de la intensidad de la infección de la raíz. La tasa de infección se determinó considerando la frecuencia de raíces infectadas en la muestra, expresada en porcentaje. Para determinar la población de esporas de micorrizas del suelo se utilizó el método de "suelo tamizado en húmedo y extracción por decantación" (Gerdemann y Nicolson, 1963). La población total se determinó en número de esporas por 100 gramos de suelo seco.

Para determinar los géneros de micorriza, se capturaron esporas utilizando pipetas Pasteur, y se colocaron en láminas de vidrio. El proceso de identificación de géneros taxonómicos de micorrizas se hizo de acuerdo con las claves taxonómicas del Cultivo Internacional de Hongos Arbusculares y Vesiculares (Morton, 1993), y de acuerdo con Morales (2004).

Resultados y discusión

La densidad visual de la raíz (Tabla 1) no fue afectada por el material genético de la palma de aceite,

Tabla 1. Densidad visual de micorrizas en muestras de rizosfera de las zonas palmeras ecuatorianas

Zona	Densidad visual (%)
Santo Domingo	5,48
Las Golondrinas	5,18
El Oriente	3,88
La Concordia	3,82
San Lorenzo	3,57
Quinindé	3,39
El Sade	2,61
Quevedo	1,58
Guayas	1,01

mostrando valores bajos (1,01% en Guayas; 5,48% en Santo Domingo) *vs*. 47,50%, que es el porcentaje teórico más alto que se puede obtener de acuerdo con la escala de Herrera (1993), utilizada para la evaluación de la densidad visual (Maldonado, 2008).

Con relación a la tasa de colonización (Tabla 2), las micorrizas no se vieron afectadas por el material genético de la palma de aceite (Ej. *E. guineensis*, *E. oleifera*, híbridos, etc.), ni por los sitios de cultivo. Todos los sitios, con excepción de Guayas, mostraron valores superiores al 50% de colonización, con la tasa más alta encontrada en las zonas de Santo Domingo, con un promedio de 72,95%. Los valores obtenidos son relativamente altos considerando el manejo agronómico de la mayoría de las plantaciones en las zonas de muestreo, que incluye el uso de agroquímicos.

Tabla 2. Tasa de colonización de micorrizas en muestras de rizosfera en las principales zonas palmeras en Ecuador

Zona	Tasa de colonización (%)
Santo Domingo	72,95
La Concordia	69,51
El Oriente	65,59
Las Golondrinas	65,97
San Lorenzo	65,06
Quinindé	60,13
Quevedo	55,62
El Sade	53,75
Guayas	45,03

Algunos investigadores reportan que la aplicación de agroquímicos tiene un efecto negativo en la colonización por micorrizas (Finlay, 2005; Ricordi, 2003; Scheirner y Bethlenfalvay, 1997). Los resultados de la tasa de colonización demuestran que existe alta dependencia de la simbiosis entre el cultivo de palma y los hongos benéficos del suelo. El nivel de dependencia de las micorrizas es el punto en el cual una planta depende de la colonización para producir crecimiento o rendimiento máximo en un suelo con determinado nivel de fertilidad (Sieverding, 1991).

La población de esporas (Tabla 3) tampoco se vio afectada por el cultivo huésped, mostrando altos valores de 3102,73 esporas/100 g de suelo seco en Las Golondrinas, *vs* valores bajos (1094,10 esporas) en la región

Tabla 3. Población de esporas de micorrizas en muestras de suelo de las principales zonas palmeras en Ecuador

Zona	Población de esporas esporas/100 g suelo seco
Las Golondrinas	3102 73
Guayas	1868 5
El Sade	1820 77
San Lorenzo	1808 14
La Concordia	1753 60
Quinindé	1602 71
Santo Domingo	1317 28
Quevedo	1164 68
El Oriente	1094 10

oriental de Ecuador. Sin embargo, todos estos valores pueden ser considerados altos, ya que en otros cultivos como la yuca (*Manihot esculenta*) el nivel crítico de esporas que se encontró fue de 1300 esporas/100 g de suelo seco. En esta situación, la población de micorrizas arbusculares puede estar afectando la producción de esa especie particular de cultivo.

Este estudio nos permitió identificar las micorrizas arbusculares como el principal tipo de micorrizas que se asocian simbióticamente con la palma de aceite. Dentro de los arbusculares, los géneros identificados de micorriza asociados con germoplasma de palma de aceite en Ecuador fueron *Acaulospora* spp., *Glomus* sp., *Archaeospora* spp., y *Gigaspora* spp. Algunos de estos géneros de micorriza han sido reportados para palma de aceite por Bernal y Morales (2006b).

Según Adholeya, Tiwari y Singh (2005) el género *Glomus* es el que se encuentra con mayor frecuencia en suelos fértiles con altos niveles de nutrientes y, por el contrario, *Acaulospora* y *Gigaspora* son los más abundantes en suelos con bajo contenido de nutrientes o en suelos que fijan nutrientes. Algunas especies del género *Glomus* spp., son frecuentemente utilizadas para inoculación (Adholeya, Tiwari y Singh, 2005).

Este estudio preliminar sobre micorrizas para la palma de aceite ecuatoriana produjo pruebas concluyentes de que existe un alto nivel de asociación simbiótica entre las raíces del cultivo y los hongos benéficos de tipo arbuscular. Los altos valores de tasa de colonización garantizan que la densidad visual (intensidad de la infección) en las raíces de la palma de aceite se puede incrementar a través de la inoculación con cepas

de micorrizas eficientes, competitivas y persistentes. Por tanto, se sugiere continuar con un estudio para seleccionar las mejores cepas para absorción de fósforo y desarrollar inóculos que puedan contribuir con el aumento del potencial de crecimiento de la palma de aceite en condiciones de vivero. Palmas jóvenes inoculadas con las mejores cepas de micorriza crecen vigorosas y, por tanto, la adaptación de las palmas a condiciones adversas, tanto abióticas (deficiencia de nutrientes) como bióticas (patógenos del suelo), en el sitio definitivo será superior. Entonces, las micorrizas sin duda contribuirán significativamente o mayor rendimiento de frutos y aceite.

Para lograr este propósito se recomienda primero multiplicar las esporas de micorrizas arbusculares (*Glomus* spp., *Acaulospora* spp., *Archaeospora* spp., y *Gigaspora* spp.) de las muestras que presenten los mejores resultados (Santo Domingo, Las Golondrinas, La Concordia, y San Lorenzo). Estas esporas se pueden propagar utilizando *Sorghum* como la planta trampa para una reproducción masiva de esporas, bajo condiciones de invernadero. Una vez obtenido el inóculo, se evalúa la eficiencia de las micorrizas nativas para absorción de fósforo bajo condiciones de vivero, y se compara con cepas comerciales y niveles de fertilización con fósforo. Las mejores cepas (eficiencia, competitividad, persistencia del suelo) se entregarán a los cultivadores de palma de aceite para ser incorporadas como parte de las mejores prácticas agronómicas para el cultivo de la palma.

Bibliográfia

Adholeya, A.; Tiwari, P.; Singh, R. 2005. Large-scale inoculum production of arbuscular mycorrhizal fungi of roots organs and inoculation strategies. En: *Soil Biology. 4. In vitro culture of mycorrhizas* (S. Declerck, D.G. Strullu, A. Fortin, eds.): 315-338. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Ancupa, 2006. Censo de plantaciones de palma aceitera en Ecuador. Quito.

Beretta M.F.; Lecuona R.E.; Zandomeni R.O.; Grau O. 1998. Genotyping isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* by RAPD with fluorescent labels. *J. Invertebr. Pathol*. 71: 145-150.

Bernal, G.; Morales, R. 2006a. Micorrizas: importancia, producción e investigación en Ecuador. Centro de Publicaciones Massgráficos. Quito (Ecuador).

Bernal, G.; Morales, R. 2006b. Estudio del comportamiento micorrízico en el cultivo de la palma aceitera en la zona de Quinindé, Ecuador. X Congreso Ecuatoriano y Primer Binacional (Ecuador-Perú) de la Ciencia del Suelo.

Blal, B.; Morel, C.; Gianinazzi-Pearson, V.; Fardeau, J.C.; Gianinazzi, S. 1990. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) *Biology and Fertility of Soils.* 9: 43-48.

Bidochka, M.J.; Menzies, F.V.; Kamp, A.M. 2002. Genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* are associated with habitat and thermal growth preferences. *Arch. Microbiol*. 178: 531-537.

Bruulsema, T.W.; Witt, C.; García, F.; Li, S.; Rao, T.N.; Chen, F.; Ivanova, S. 2008. A Global Framework for Fertilizer BMPs. *Better Crops With Plant Food.* 92 (2): 13-15.

Castrillo, L.A.; Brooks, W.M. 1998. Differentiation of *Beauveria bassiana* isolates from the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*, using isozyme and RAPD analyses. *J. Invertebr. Pathol*. 72: 190-196.

Corley, R.H.V.; Tinker, P.B.H. 2003. The Oil Palm. 4th Edition. Blackwell Publishing Ltd. UK. (Inglaterra).

Donough, C.R. 2008. Experto en nutrición de palma aceitera. International Plant Nutrition Institute (IPNI). Singapore. Comunicación personal durante la visita científica al Ecuador en abril.

Finlay, R. 2005. Action and interaction in the mycorrhizal hyphosphere – a re-evaluation of the role of mycorrhizas in nutrient acquisition and plant ecology. En: *Ecological Studies*. 181.

Nutrient Acquisition by Plants. An Ecological Perspective (H. Bassirirad, ed.): 221-276. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin.

Gerdemann, J.; Nicolson, T. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *British Mycological Society*. 46: 235-244.

Hamel, C. 1996. Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Ecosystems and Environment*. 60: 197-210.

Hartley, C.W.S. 1988. The Oil Palm. (3rd Edition). Longman UK Group Limited. (England).

Herrera, P. 1993. General methodology to analyze rootlets, raw humus and VA mycorrhizal (VAM) components (Cuba).

Kurle, J.E.; Pfleger, F.L. 1994. Arbuscular mycorrhizal fungus spore populations respond to conversions between low-input and conventional management practices in a corn-soybean rotation. *Agron. J*. 86: 467-475.

Maldonado, L. 2008. Estudio del comportamiento de las asociaciones micorrízicas en el material germoplásmico de la palma aceitera en Ecuador. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas

y Naturales. Escuela de Ciencias Biológicas. Universidad Católica del Ecuador. Quito.

McGonigle, T.P.; Evans, D.G.; Miller, M.H. 1990. Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiments. *New Phytol*. 116: 629-636.

Morales, R. 2004. Estudio de la diversidad microbiana en sistemas agroforestales de café (*Coffea* sp.), y cultivos de pastos y arroz (*Oriza sativa*), en dos tipos de suelo del sur de Manabí. Tesis de Ingeniería. Universidad Central del Ecuador. Quito (Ecuador).

Morton, J. 1993. Traditional definitions of spore morphological characters. [En línea]. "Internacional Culture of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Fungi". Invam. [Disponible en:] <http://invam.caf.wvu.edu> (consultado: diciembre de 2007).

Sylvia, D.M. 1998. Mycorrhizal Symbioses. En: *Principles and Applications of Soil Microbiology.* Edited by Sylvia D.M. *et al.* Prentice Hall. Upper Saddle River, Nueva Jersey 07458.

Ricordi, A. 2003. Glyphosate effects on sugarcane mycorrhizal colonization. [En línea]. Potash Phosphate Institute [Disponible en:] http://www.ipni.net/far/farguide.nsf/$webindex/613 htm (consultado: septiembre de 2007).

Scheirner, R.P.; Bethlenfalvay, G.J. 1997. Mycorrhizae, biocides and biocontrol. Effects of three different fungicides on developmental stages of three AM fungi. *Biology and Fertility of Soils*. 24: 18-26.

Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Cooperation, Federal Republic of Germany. Eschborn. Scriftenreihe der GT.

Wani ,S.P.; McGill, W.B.; Tewari, J.P. 1991. Mycorrhizal and common root-rot infection and nutrient accumulation in barley grown on Breton loam using N from biological fixation or fertilizer. *Biol. Fertil. Soils*. 12: 46-54.