

SIMPOSIO NO. 1 CIENCIA Y TÉCNICA

TEMA: OBTENCIÓN DE BIOPREPARADO MICROBIANO AUTÓCTONO QUE CONTRIBUYAN AL COMPOSTAJE DE LA MATERIA ORGÁNICA FIBROSA

**AUTORES: MG AS. ÁNGEL GUZMÁN CEDEÑO
DRA. C. ANA RONDÓN CASTILLO
DR. C. MANUEL PÉREZ QUINTANA
TLGO. DIEGO ZAMBRANO PAZMIÑO**

La humanidad se enfrenta al desafío de obtener más y mejores alimentos para satisfacer los requerimientos de una población que crece geométricamente en relación a la oferta alimentaria (**FAO, 1999**). El reto es mayor si se considera que las áreas cultivables en el mundo se reducen progresivamente para dar paso a los asentamientos humanos o porque biológicamente han disminuido o perdido su capacidad productiva, con el consecuente abandono por parte de los agricultores. Se señala que los países en vías de desarrollo son los más sensibles dada su dependencia económica y tecnológica. Se estima que la población urbana en estos países se duplicara hasta alcanzar 4000 millones de habitantes en el 2025, lo que representa cerca del 90% del crecimiento demográfico mundial. En América Latina, la población urbana sigue una tendencia similar, al finalizar el año 2010 se previó que llegaría a los 500 millones de personas, manteniéndose relativamente estable la población rural en más de 100 millones (**Naciones Unidas, 1998**).

Paralelo a este panorama mundial y regional, surgen dos fuerzas impulsoras de la agricultura ecológica: 1. El mercado diferenciado, ya que cada vez es mayor el número de personas que están dispuestas a pagar sobreprecio por los alimentos “sello verde” obtenidos en procesos agrícolas que sean consecuentes con la naturaleza y cumplan con la exigencia de calidad de los consumidores, y 2. El desarrollo rural integral, que busca que la unidad productiva se asemeje lo más posible a un ecosistema natural, este sistema integrado incluye producción animal, utilización de varios estratos sobre el suelo, desarrollo de ciclos energéticos lo más cerrados posible, producción y uso de insumos internos que aseguren el autoabastecimiento dentro del espacio y el proceso productivo (**Enciclopedia Agropecuaria, 2005**). Además, los productores ecológicos u orgánicos deben enfocar su práctica en dos aspectos esenciales; por un lado el adecuado manejo ecológico del suelo (**Primavesi, 1982**), especialmente la nutrición a través de la incorporación de materia orgánica (**Mac Cormack, et al. 1993**), en segundo lugar respetar la diversidad estructural y de procesos (**Altieri, 1983**).

Ecuador, no escapa a la crisis económica, social y ambiental que viene soportando la región, lo cual obliga a establecer un proceso de desarrollo sostenible (**GTZ, 2007**). Actualmente se está debatiendo e implementando una nueva estrategia nacional de desarrollo basada en el ordenamiento territorial

para la zonificación ecológica del país sobre la base de capacidad de uso de los ecosistemas, de las necesidades de protección del ambiente y de la conservación de los recursos naturales y del patrimonio natural y cultural; consecuentemente la nueva constitución de la república establece el marco jurídico necesario para atender la actividad agropecuaria con un enfoque conservacionista que conduzca al desarrollo sustentable del país. El literal 3 del Art. 281 relacionado a soberanía alimentaria dice: “será responsabilidad del Estado fortalecer la diversificación y la introducción de tecnologías ecológicas y orgánicas en la producción agropecuaria”, por ello en el Art. 410, referido al suelo, indica: el Estado brindara a los agricultores y a las comunidades rurales apoyo para la conservación y restauración de los suelos, así como para el desarrollo de prácticas agrícolas que los protejan y promuevan la soberanía alimentaria (**Constitución, 2009**).

Indudablemente, hay una iniciativa muy interesante del sector agrícola agro exportador respecto a la producción orgánica en el país, Según la **GTZ (2007)** en el 2002 se dedicaban 10247 hectáreas al cultivo orgánico de 15 especies diferentes, para el año 2006 el número de especies subió a 25 y la superficie de siembra se incrementó a 52160 hectáreas. Asimismo, hay esfuerzos de organismos seccionales, centros educativos, Ong's y de familias entusiastas por establecer modelos de producción agrícola alternativos. Este tipo de agricultura implica la producción de alimentos, donde se aplican métodos intensivos de producción (**Suquilanda, 2007; Leyva, 2007**), igualmente tiene en cuenta la interrelación hombre-cultivo-medio ambiente que propicien la estabilidad de la fuerza de trabajo y la producción diversificada de cultivos y animales durante todo el año, basado en prácticas sostenibles que permitan el reciclaje de los desechos orgánicos al interior de las unidades de producción (**Paneque y Calaña, 2005**).

Para desarrollar este modelo de agricultura es necesario promover el uso de tecnologías que conduzcan al aprovechamiento de los residuos biodegradables y producir abonos (compost, lombricompost); obtener y usar biofertilizantes; realizar controles biológicos de plagas, etc (**Costa et al., 1991**).

La actividad microbiana es esencial para la liberación de los nutrientes contenidos en esos residuos orgánicos, además se estima que una población microbiológica activa suele ser un buen indicador de la fertilidad de los suelos o sustratos donde se desarrollan las plantas (**Núñez, 2000**).

La disposición final de la gran cantidad de residuos orgánicos producidos en el mundo representa un problema que afecta al medio ambiente, en los actuales momentos se busca reducir la masa de estos tipos de residuos mediante la implementación de métodos biotecnológicos que contribuyan a disminuir su volumen y a favorecer su reutilización.

Precisamente uno de los procesos ecológicos que tiene lugar en el suelo agrícola es el ciclaje de nutrientes donde participa la micro biota del suelo descomponiendo la materia orgánica para liberar los elementos contenidos en ella. En estado natural este proceso se ve condicionado por factores ambientales y antropocéntricos en dependencia del modelo de agricultura implementado en el agrosistema, lo cual conduce al desarrollo y uso de

tecnologías en procura de potenciar la actividad microbiana en el aprovechamiento de los desechos y residuos orgánicos generados tanto en la ciudad como en el sector rural.

Dentro del modelo de agricultura convencional el recurso suelo es considerado simplemente como un soporte en el cual se incorporan los nutrientes para el desarrollo de las plantas y se aplican agroquímicos sin ninguna consideración medioambiental; no se logra entender que este recurso tiene vida y su dinámica está estrechamente relacionada con los ciclos de la naturaleza y es un recurso no renovable a corto plazo **(Linares y Monedero 2004)**.

Se reconoce que los modelos de producción químico- mecanizados desarrollados en el mundo han ayudado en los incrementos de la producción de alimentos para una población creciente, en números de habitantes; sin embargo, han provocado una alta degradación del recurso agro productivo, una elevada dependencia de insumos agrícolas importados (lo cual incrementa los costos de producción), disminución de la biodiversidad de interés alimentario y la oferta de alimentos contaminados con impacto desfavorable en la salud humana. A pesar de ello, la comunidad científica no dedica sus mejores y mayores esfuerzos en desarrollar conocimiento y tecnologías para alcanzar una agricultura sostenible. En ese sentido ha sido incipiente el aprovechamiento del campo microbiológico en la obtención y uso de Biopreparado microbianos que transformen eficientemente los residuos y desechos biodegradables en abonos orgánicos de calidad.

El aislamiento de estos microorganismos debe ser del suelo, ya que se considera que es el componente básico de los ecosistemas terrestres, algunos edafólogos lo definen como un laboratorio maravilloso de la vida, no solo por la diversidad que alberga sino porque funciona como reciclador de la materia orgánica y controlador, tanto de la dinámica de la circulación de nutrientes como de los flujos de energía **(Chamorro, 2001)**. Al seleccionar cepas de microorganismos (hongos y bacterias) para compostaje de residuos fibrosos el debe primar el criterio de actividad enzimática celulolítica.

La celulosa, componente principal de los residuos en mención, es un polisacárido lineal formado por residuos de glucosa unidos por enlaces beta 1-4. Estas cadenas lineales de celulosa interaccionan entre sí por medio de enlaces de puentes de hidrógeno dando lugar a la formación de micro fibrillas con regiones altamente ordenadas que le dan las características de insolubilidad, rigidez y resistencia al ataque enzimático y que se conocen como regiones cristalinas. Cuando a lo largo del haz de cadenas se rompen los puentes de hidrógeno se forman regiones denominadas amorfas, que permiten su hidratación y mejor accesibilidad al ataque enzimático **(Mejía et al., 2002)**.

Continúan manifestando que esas enzimas que exudan los microorganismos presentan tres propiedades a tener en cuenta: 1. contienen un sitio activo o catalítico la cual es una región que se pone en contacto con el sustrato; 2. la

especificidad o capacidad de la enzima para poder reconocer el reactante (llamado sustrato) de la reacción que acelera, además determina que sustrato es el que se usa para la reacción enzimática y 3. la afinidad que es la capacidad de la enzima para determinar cuánto sustrato utiliza para iniciar su función de acelerar la reacción bioquímica.

Según **Anaya, (2003)** la célula microbiana está compuesta por una multitud de compuestos orgánicos que conjuntamente determinan su estructura y su actividad fisiológica; estos incluyen aminoácidos, vitaminas, purinas entre otros, ciertos organismos son incapaces de producir una o más sustancias esenciales, por lo tanto para que puedan sobrevivir y desarrollarse, debe existir fuentes externas disponibles de estas sustancias, las cuales se toman del exterior y son llamados factores de crecimiento, que son compuestos orgánicos que en pequeñas concentraciones promueven el crecimiento.

El mismo autor sostiene que el pH es importante en términos de interacción partículas-sustrato, ya que la carga de una molécula cambia si el pH cambia, si esto sucede, entonces la molécula se comporta totalmente distinta; por esta razón, el pH regula el grado de retención de numerosos nutrientes solubles sobre la superficies coloidales, mientras que el potencial de oxidación-reducción determina la disponibilidad de diversos nutrientes, ambas cosas son importantes para la nutrición de los microorganismos.

Gamboa et al., (2006) señala que la mayoría de microorganismos crece mejor cerca de la neutralidad (pH 7,0), aunque se reconocen límites superiores e inferiores de su ámbito específico, fuera del cual un microorganismo no se multiplica. Con frecuencia el metabolismo del propio microorganismo influye el pH de su hábitat. La temperatura es otro factor del ambiente que afecta la tasa de crecimiento de los microorganismos, debido a que influye en la actividad enzimática; cada organismo vivo tiene una temperatura óptima para su crecimiento, casi relacionada con la temperatura de su hábitat, para cada microorganismo se ha definido una temperatura mínima, por debajo de la cual no crece; mas a un a bajas temperaturas (0°C o inferiores) el metabolismo cesa por disminución de la actividad enzimática y porque el agua, que puede estar cristalizada, no permite llevar a cabo las reacciones metabólicas, el ingreso de nutrientes ni la eliminación de desechos; también se ha definido una temperatura máxima, sobre la cual las bacterias tampoco crecen e incluso puede ocurrir desnaturalización de proteínas que provocan la muerte celular.

Lo anteriormente anotado debe tomárselo en cuenta en la aplicación de las nuevas propuestas agro productivas de menor impacto en el uso de los recursos, que van surgiendo en las zonas tropicales del mundo. La recuperación y conservación del suelo desde el punto de vista físico, químico y biológico, depende del manejo ecológico que se le haga. Una alternativa viable es la incorporación de materia orgánica a través de los abonos orgánicos, entre otras prácticas integradoras (agronómicas, culturales, mecánicas, etc.), tal como lo señala **Suquilanda (2007)**, quien manifiesta que en el Ecuador se está incrementando la producción de abonos a partir de una diversidad de desechos orgánicos, los cuales son usados en la creciente agricultura orgánica que se experimenta en el país a diferentes escalas.

Salisbury y Ross (1999) indican que la materia orgánica constituye un factor importante en la fertilidad de los suelos porque los cationes no se pierden con facilidad cuando el suelo es lavado por el agua; pues la descomposición de la materia orgánica origina el humus, que posee partículas orgánicas con carga superficial negativa; que son importantes en la absorción de cationes minerales (**Munevar, 1998**).

Sin embargo el tiempo necesario para completar el proceso de descomposición y mineralización de materiales orgánicos, en condiciones naturales, puede variar de días a años, dependiendo de las condiciones medio ambientales y de la calidad de los residuos como fuente de alimentos para los microorganismos encargados de esta actividad. Las condiciones medio ambientales deben favorecer la actividad microbiana, por lo que una tasa de descomposición y mineralización alta está asociada con un pH neutro, suficiente humedad y buena aireación (60% de la porosidad ocupada por agua) y temperaturas entre 25 y 35°C (**Alvarado, 2010**). En este sentido, **Paul y Voroney (1984)** sostienen que la actividad microbiana es de tres a diez veces menor en zonas templadas en comparación a las regiones tropicales.

King y Christine (2001), reconocen en Winogradsky (1856-1953) al pionero en estudiar los complejos bacterianos del suelo, especialmente los que participan en el ciclo del nitrógeno, él estaba consciente de que la complejidad de las bacterias del suelo era necesario estudiarlas en sus hábitats naturales y que la mayoría de los organismos se encuentran en estado latente, puso como ejemplo *Azotobacter* que se activa en forma aislada, pero que se mantiene en reposo en medio de la tierra. Asimismo resaltan sus investigaciones realizadas entre 1926-1929 sobre la descomposición de la celulosa a partir de microorganismos aerobios, lo cual le permitió comprobar la existencia de varios géneros de bacterias capaces de atacar a la celulosa.

En adelante, son diversos los trabajos acerca de la ecología y actividad microbiana de los suelos, lo que le ha permitido a **Paul y Voroney (1984)** concluir que los microorganismos dominan varias reacciones y procesos que son fundamental para una agricultura sostenible, o lo señalado por **Rutherford y Juma (1992)**, quienes sostienen que la comunidad microbiana se ve afectada por la profundidad del suelo, sus condiciones físico-químicas y prácticas antropogénicas en la agricultura como la labranza y el uso de plaguicidas. Sin embargo para el **Worldwatch Institute (1994)**, la medición de parámetros biológicos como la biomasa y actividad microbiana no se incluyen en el análisis estándar de los suelos, los cuales son básicos para el desarrollo de una agricultura más sostenible; señala además que la observación y el informe de la "fatiga del suelo" en todo el mundo es probablemente el resultado de la disminución de estos parámetros biológicos y la consiguiente disminución de la productividad del suelo. Con la creciente conciencia de la importancia de la microbiología del suelo en la agricultura es prácticamente seguro que los parámetros biológicos se convertirán en un componente útil del análisis y diagnóstico de los suelos en el futuro.

Por ello, **Paneque y Calaña (2005)** sostienen que a través de toda la historia y el desarrollo de la agricultura el uso de los abonos orgánicos han tenido y tienen importancia destacada. En la actualidad esa importancia es mayor

porque además de mejorar los suelos con el uso de los abonos orgánicos, entre ellos el compost, se obtienen cosechas más sanas y productos agrícolas ecológicamente balanceados. La calidad de esos abonos esta en dependencia de la actividad de las comunidades microbianas que participen en la humificación y mineralización de los residuos orgánicos. Desde la década del 70 del siglo pasado hay indicios, derivados de la actividad científica, de que el género *Bacillus* podría ser el componente principal de la comunidad termofílica en el compostaje de residuos sólidos.

Sin embargo el historial bibliográfico de las investigaciones ha ignorado o subestimado el trabajo en conjunto de la diversidad microbiana en pro de la agricultura. El potencial de los microorganismos nativos, es decir su abundancia y vigor, también es otro factor que no se considera en estudios microbiológicos del suelo y su uso en la producción de abonos orgánicos, lo cual ha contribuido en el Ecuador a la introducción de microorganismos “foráneos” categorizados como eficientes. No se toma en cuenta que estos microorganismos provienen muchas veces de sitios con condiciones edafoclimáticas diferentes al sitio donde se pretende usarlos, por lo que su adaptabilidad a las nuevas condiciones se reduce considerablemente, disminuyendo la capacidad de usarlos como inoculantes microbianos (Suquilanda, 2007).

Para Alvarado (2010) otras condiciones a tomar en cuenta es el tamaño de la partícula de los residuos, mientras más pequeña mejor, porque habrá una mayor superficie expuesta a la descomposición. La relación C/N es otro elemento importante; en la materia orgánica de origen vegetal puede variar entre 10:1 y 600:1. En los cuerpos y células de los microorganismos no solo que es menos variable sino que es mucho menor; de 5:1 para las bacterias, a 10:1 para los hongos filamentosos (Pelczar y Reid, 2004).

Los microorganismos incorporan dentro de sus células cerca de ocho partes de C y una parte de N; considerando que solamente cerca de un tercio de C metabolizado por los microorganismos es incorporado en sus células, estos necesitan 1g de N por cada 24g de carbono en el sustrato a descomponer. Este requerimiento es muy importante al momento de seleccionar los microorganismos y los residuos orgánicos que se van a compostar, lo cual tiene dos consecuencias prácticas muy importantes: (1) el uso de residuos orgánicos para la formación de abonos, con relaciones C/N altas agotan las reservas de N soluble, causando deficiencias para las plantas, y (2) la descomposición de materiales orgánicos puede ser retardado sino existe suficiente N para sustentar el crecimiento microbiano (Alvarado, 2010). Por ello, Stevenson (1994); Pelczar y Reid (2004) indican que cada tipo de compuesto orgánico tiene una tasa diferente de descomposición. En orden decreciente mencionan: azúcares, almidones, proteínas simples, hemicelulosa, celulosa, grasa, ceras, ligninas.

Jenkinson (1981) sostiene que la compleja asociación de microorganismos que transforman la materia orgánica trabaja en forma secuencial. Inicialmente actúan grupos de bacterias sobre los materiales orgánicos mas solubles como azúcares, aminoácidos, proteínas, etc. luego comienzan a ser sustituidos por otras bacterias esporógenas, capaces de usar compuestos más complejos,

almidones, celulosa, etc. Hacia el final del proceso actúan los hongos, especialmente actinomicetos, los cuales son capaces de realizar transformaciones muy complejas. Por lo tanto se debe evaluar un número considerable de “cepas” para conocer las de mayor eficiencia, de acuerdo al interés que se busca.

El propósito de esta investigación fue aislar y seleccionar microorganismos autóctonos de interés en la elaboración de bioproductos que contribuyan al compostaje de residuos orgánicos fibrosos.

El aislamiento y selección de cepas de microorganismos (hongos filamentosos y bacterias) descomponedores de materia orgánica fibrosa, se llevó a partir de muestras tomadas de los ambientes de trabajo que se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Ambientes de captura y aislamiento de microorganismos

Ambiente	Ubicación	Características
Agricultura orgánica A.O	Suelo arado del área orgánica del Campus de la ESPAM	Posición fisiográfica del lugar: Llano Topografía del terreno circundante: Llano Microrrelieve: Irregular por la aradura Pendiente donde se tomó el perfil: menos de 1% Vegetación o uso de la tierra: Terreno en preparación para la siembra.
Agricultura convencional A.Q	En el área convencional del Campus de la ESPAM, en preparación para la siembra	Posición fisiográfica del lugar: Llano Topografía del terreno circundante: Llano Microrrelieve: No se observa Pendiente donde se tomó el perfil: Menos de 1% Vegetación o uso de la tierra: En preparación para la siembra.
Bosque B.M	bosque del Campus de la ESPAM	Posición fisiográfica del lugar: Llano Topografía del terreno circundante: Llano Microrrelieve: Algunas pequeñas depresiones por caída de árboles Pendiente donde se tomó el perfil: Menos de 2% Vegetación o uso de la tierra: Bosque secundario de unos 20 años.
Área cañera R.C	Llanura acumulativa a 3 km de	Posición fisiográfica del lugar: Llanura acumulativa

	Chone	Topografía del terreno circundante: Llano Microrrelieve: No se observa Pendiente donde se tomó el perfil: Menos de 1% Vegetación o uso de la tierra: Caña de azúcar.
Compost A.C	Bananera orgánica. Estancilla- Tosagua	Pila de 8 semanas de compostaje

Se preparó un capturador de microorganismos con medios de cultivo Agar Nutriente enriquecido para bacterias y Agar Czapek para hongos filamentosos. En los ambientes de campo se procuró lugares húmedo y cubierto de vegetación, o piso de árboles sano y robusto, tanto para la toma de muestra como la colocación de trampas a 15 cm de profundidad.

A las 24 horas se retiraron las trampas de bacterias y a las 72 horas las trampas de hongo, fueron llevadas a laboratorio para proceder al aislamiento.

- ▶ Para *Bacillus* spp se tomó los microorganismos crecidos en la placa y colocó en frío durante 72 horas. Luego se colocó toda la masa bacteriana de la placa en caldo nutriente y trató térmicamente a 71 grados celsius por 10 minutos.
- ▶ Se realizó siembra de la suspensión de endosporas por diluciones seriadas y sembró en placas.
- ▶ Al cabo de las 24 horas se tomó las colonias de mayor crecimiento.
- ▶ Se purificó por agotamiento.
- ▶ Obtuvo banco de cepas.
- ▶ Para hongos filamentosos se separó las diferentes colonias crecidas en Agar Czapek, se purificó por agotamiento y luego se sembraron las esporas en placas.
- ▶ Obtuvo banco de cepas.

En el cuadro 2 se puede apreciar el resultado de esta fase preliminar del estudio, se aislaron 93 cepas de bacterias y 130 cepas de hongos; de las cuales 153 se obtuvieron de muestras de suelo y 70 procedentes de trampas en cajas petri, que contenían como única fuente de carbono a la celulosa. El mayor porcentaje de cepas aisladas se dio en el área cañera, mientras que la mejor forma de captura fue a partir de las muestras de sustrato.

cuadro 2. Numero de cepas (bacterias y hongos) según la forma de captura.

	Forma de captura				Frecuencia	(%)
	Bacterias		Hongos			
Ambientes	Muestra	Tramp	Muestra	Trampa		

		a				
Área orgánica	26		8	12	46	20,6
Área convencional	7		16	34	57	25,6
Bosque	12		14	2	28	12,6
Área cañera	19	22	19		60	26,9
Compost	7		25		32	14,3
Frecuencia	71	22	82	48	223	
Porcentaje (%)	31,8	9,9	36,8	21,5		

A las 223 cepas de microorganismos (93 bacterias y 130 hongos) purificadas se les realizó una prueba semi-cuantitativa mediante la siembra en punción, empleando agar Carboximetilcelulosa; fueron incubadas a 37°C, por 72 horas, después se efectuó una tinción adicionando rojo Congo (según **Arroyo, 2010** este colorante muestra una fuerte interacción con los polisacáridos que tienen unidades D-glucopiranosil contiguas unidas por enlaces B-(1-4) y una interacción significativa con B-(1-3)-D-glucano, el intenso color del complejo colorante glucano permite la diferenciación visual entre organismos que utilizan la celulosa y los que no) al 1% como revelador, el colorante se dejó actuar por 15 minutos, se retiró el exceso y se adiciono una solución de cloruro de sodio (NaCl) 2M, dejando reposar por quince minutos más, transcurrido este tiempo se determinó la actividad celulolítica por la presencia de zonas de aclaramiento (halos), manifestado por la hidrólisis de la celulosa, cuyo diámetro fue medido en milímetros. (**Teather y Wood. 1982. Citado por Gaitán, D. y Pérez, L. 2007**). 30 cepas de bacterias y 47 cepas de hongos produjeron el halo de hidrólisis (cuadro 3). La mejor cepa de bacteria degradadora de celulosa fue A.O-19 del área orgánica con 12,3 mm de halo: en el caso de los hongos resultó con mayor halo de hidrólisis (10,3 mm) la cepa A.Q- 8 del área convencional.

Cuadro 3. Cepas que produjeron halo de hidrólisis

Ambientes	Bacterias	mm	Hongos	mm
Área orgánica			A.O-1	7,67
			A.O-2	6,67
	A.O- 19	12,30	A.O-3	5,00
	A.O- 28	3,42	A.O-4	7,00
	A.O- 29	3,42	A.O-5	6,00
	A.O- 30	2,83	A.O-6	6,00
			A.O-7	2,83
			A.Q-1	1,33
			A.Q-2	4,33
			A.Q-3	7,67
			A.Q-4	4,00
			A.Q-5	3,17
			A.Q-6	5,33
			A.Q-7	2,17
			A.Q-8	10,30
			A.Q-9	2,67
			A.Q-10	2,67

Área convencional			A.Q-11	2,67	
			A.Q-12	4,33	
			A.Q-13	4,33	
			A.Q-14	5,00	
			A.Q-15	3,67	
			A.Q-16	3,33	
		A.Q- 2	3,23	A.Q-17	2,00
		A.Q- 3	1,33	A.Q-18	3,17
		A.Q. 4	1,67	A.Q-19	3,67
		A.Q- 8	2,37	A.Q-20	3,77
				A.Q-21	3,17
				A.Q-22	3,33
				A.Q-23	5,00
				A.Q-24	2,67
				A.Q-25	1,67
				A.Q-26	5,67
				A.Q-27	5,00
				A.Q-28	3,67
				A.Q-29	3,67
				A.Q-30	5,00
				A.Q-31	2,23
				A.Q-32	4,33
				A.Q-33	3,33
	Bosque	B.M- 1	1,20		
		B.M- 5	2,50	B.M-1	5,33
		B.M- 7	3,50	B.M -2	3,00
		B.M-10	2,30		
		B.M-11	1,50		
	Área cañera	R.C- 1	2,33		
		R.C- 2	2,33		
		R.C- 3	4,73		
		R.C- 4	1,33		
		R.C- 5	1,83		
R.C- 6		2,83			
R.C- 7		2,17	R:C-1		
R.C- 8		2,33	4,67		
R.C- 9		7,50	R:C-2		
R.C- 10		2,17	4,33		
R.C- 11		2,00	R:C-3		
R.C- 12		2,17	7,67		
R.C- 13		2,33	R:C-4		
R.C- 15		2,33	3,67		
R.C- 16		2,67			
R.C- 18		3,50			
R.C- 23		1,17			
Compost				A.C-1	2,5

Total	30	47
-------	----	----

En bacterias, los valores máximos de actividad celulolítica se observaron en las cepas A.O-19, B.M-7, R.C-3, R.C-9, R.C-18; y en los hongos se dio en las cepas A.Q-8, A.Q-3, A.O-1, A.O-4, R.C-3, A.O-2. Sin embargo al revisar la desviación estándar, considerando sus réplicas, se escogieron 10 cepas de bacterias y 11 de hongos para evaluar, en una segunda fase, criterios de selección adicionales: capacidad de crecimiento, plasticidad ecológica (pH y temperatura) y fitopatogenicidad. En las dos primeras pruebas se evaluará crecimiento radial de las cepas y en la última la patogenicidad en especies hortícolas de los grupos: leguminosas (cají), oleaginosa (maní), solanácea (pimiento) y cucurbitáceas (pepino). Aquí solo se presentan los resultados de actividad enzimática (degradación de celulosa y almidón) de las 21 cepas, que corresponde al estudio de la primera fase.

Bacterias

En el figura 1. Se pueden observar las cepas de bacterias agrupadas de acuerdo a su capacidad enzimática celulolítica y amilolítica. El valor de $p < 0,05$ ($p = 0,0343$) demuestra que existen diferencias significativas con respecto al halo de hidrólisis de la actividad CMCasa. Se revelan dos grupos en el dendograma para el análisis de conglomerados, los cuales se forman debido al grado de similitud existente entre las medias de los diámetros del halo. En el primer grupo se encuentran dos cepas A.O-19 y la B.M-1 con una media de 6,75 mm; mientras que en el grupo dos están las cepas B.M-5, B.M-7, A.Q-3, R.C-2, R.C-4, R.C-6, R.C-13 y la R.C-18, con una media de 3,40 mm (tabla. 1).

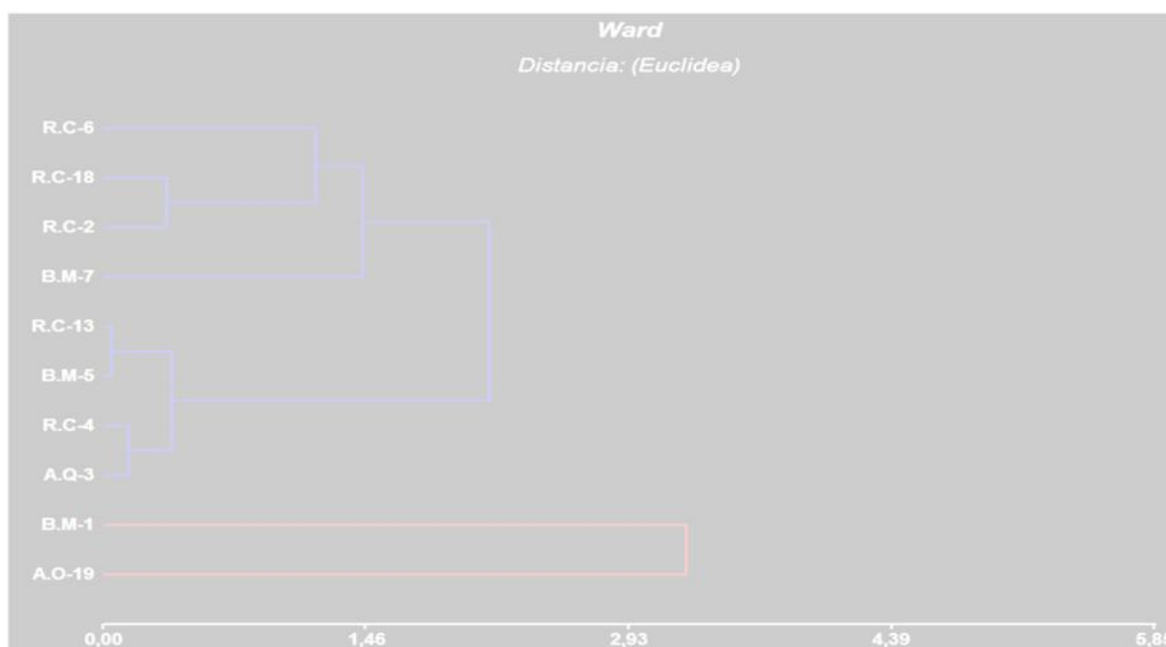


Fig. 1. Agrupación de cepas de bacterias por acción enzimática

La actividad amilolítica mostró un valor de $p < 0,05$ ($p = < 0,0001$), lo cual evidencia que existen diferencias significativas en los diámetros de los halos

producidos entre los grupos. En el primero conformado por las cepas A.O-19 y la B.M-1 presentaron mayor actividad enzimática con una media de 8,71mm con respecto al promedio del segundo grupo que alcanzó apenas 0,47 mm.

La cepa A.O-19 presentó la mayor actividad CMCasa con 12,33 mm mientras que la cepa B.M-1 demostró mejor actividad amilolítica con 9,33 mm de diámetro de halo de hidrólisis.

Tabla 1. Comparación entre grupos de actividad enzimática de las bacterias

Conglomerado	Celulosa		Almidón	
	Halo (mm/hora)	E.E	Halo (mm/hora)	E.E
1	6,75 a	1,34	8,71 a	0,59
2	3,40 b	0,67	0,47 b	0,30

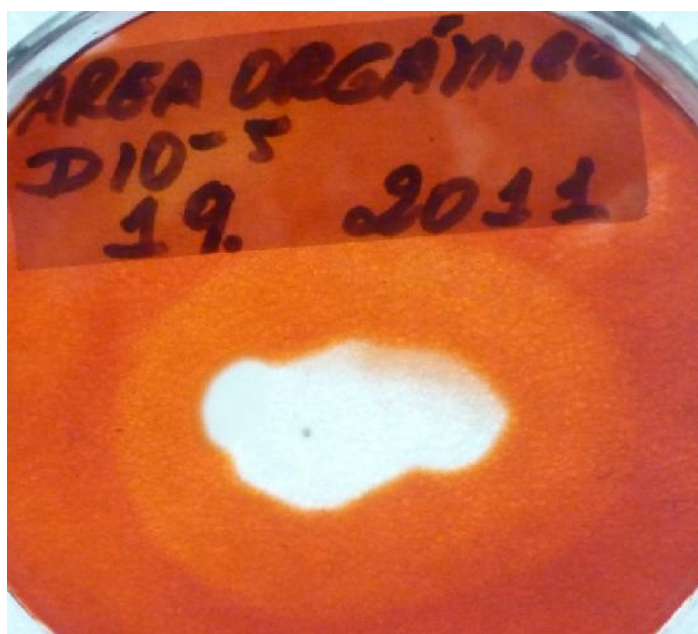


Fig 2. Zonas de aclaramiento, cepa A.O-19 en Agar CMC 1%(p/v).

Hongos

Mientras que en la figura 2 se pueden observar las cepas de hongos agrupadas de acuerdo a su capacidad enzimática celulolítica y amilolítica. El valor de $p < 0,05$ ($p = 0,0001$) demuestra que existen diferencias significativas con respecto al halo de hidrólisis de la actividad CMCasa. Se revelan dos grupos en el dendograma, los cuales se forman debido al grado de similitud existente entre las medias de los diámetros del halo. En el primer grupo se encuentran las cepas A.O-1, A.O-2, A.O-6, A.Q-3, A.Q-7 y A.Q-8 con una media de 11,17 mm, mientras que en el grupo dos hay 5 cepas y entre ellas se encuentran las cepas A.O-3; A.O-4; A.O-5; A.Q-27; R.C-3, con una media de 9,07 mm (tabla 2).

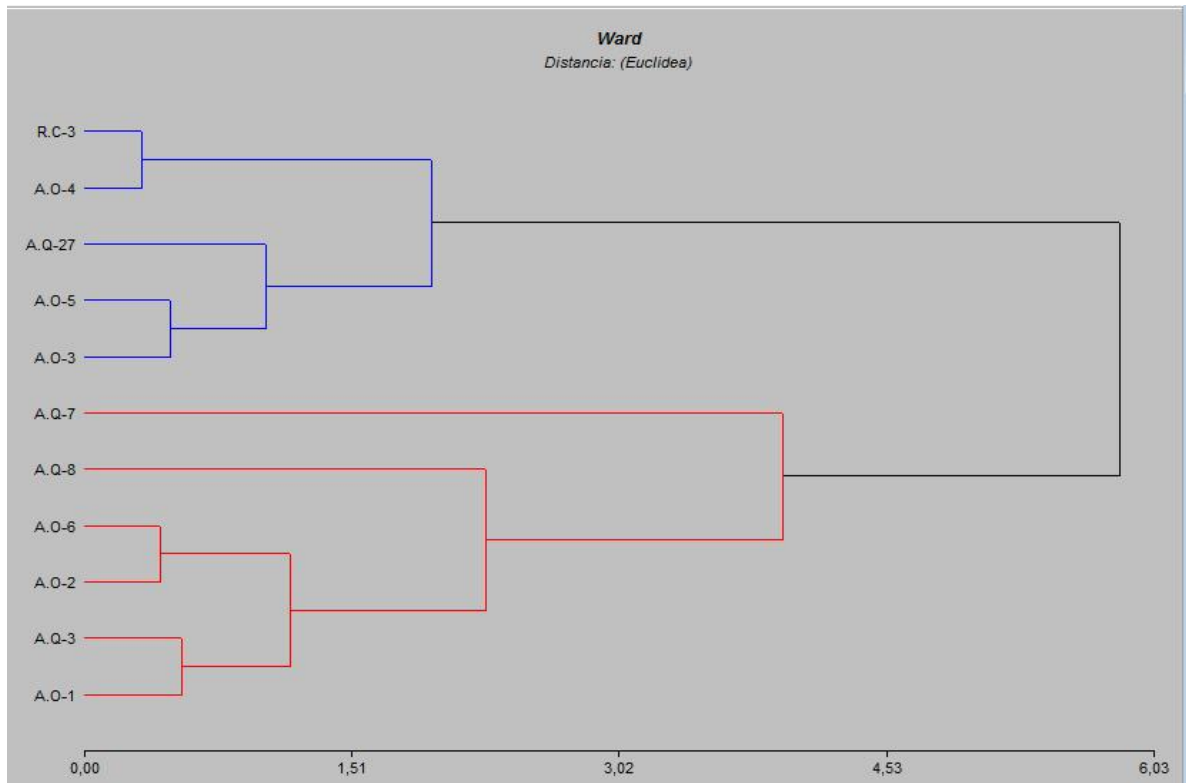


Fig. 3. Agrupación de cepas de hongos por acción enzimática

La actividad amilolítica mostró un valor de $p < 0,05$ ($p = 0,4265$), lo cual evidencia que no existen diferencias significativas en los diámetros de los halos producidos por los hongos. Se conformaron dos grupos en el primero las cepas A.O-1, A.O-2, A.O-6, A.Q-3, A.Q-7 y A.Q-8 produjeron una media de 6,75 mm, mientras que en el segundo grupo el promedio fue de 6,13 mm.

En el primer grupo sobresalen La cepa A.Q-8 que presento la mayor actividad CMCasa con 10,33 mm (figura 4); mientras que la cepa A.Q-7 mostró mejor actividad amilolítica con 12,00 mm de diámetro de halo de hidrólisis.

Tabla 2. Comparación entre grupos de actividad enzimática de los hongos

Conglomerado	Celulosa		Almidón	
	Halo (mm/hora)	E.E.	Halo (mm/hora)	E.E.
1	11,17 a	0,26	6,75 a	0,52
2	9,07 b	0,28	6,13 a	0,57

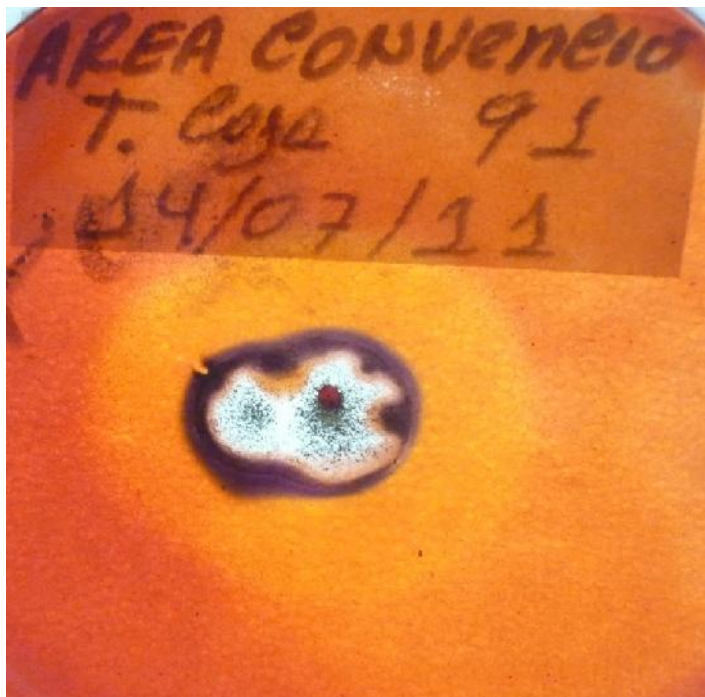


Fig. 4. Zonas de aclaramiento, cepa A.Q-8 en Agar CMC 1%(p/v).

CONCLUSIONES.

Se logró el aislamiento de 223 cepas de microorganismos (93 bacterias y 130 hongos) con actividad enzimática sobre la celulosa. El mayor porcentaje de cepas aisladas se dio en el área cañera, mientras que la mejor forma de captura fue a partir de las muestras de sustrato.

Selección de 77 cepas de microorganismos (30 bacterias y 47 hongos) con mayor actividad celulolítica en CMC 1% (p/v).

La cepa de bacteria con mayor eficiencia enzimática fue la A.O-19, aislada del área de agricultura orgánica de la ESPAM-MFL.

La cepa de hongo con mayor eficiencia enzimática fue la A.Q-8, aislada del área de agricultura convencional de la ESPAM-MFL.

BIBLIOGRAFÍA

1. Altieri, M. 1983. Agroecológica, bases ecológicas de la agricultura alternativa. Berkeley, California. Universidad de California.
2. Alvarado, S. 2010. Dinámica de la materia orgánica en suelos agrícolas. Ponencia XI. Congreso ecuatoriano de la ciencia del suelo. Santo Domingo-Ecuador.
3. Anaya, A. 2003. Ecología química. 1 Ed. Mexico p 234.
4. Arroyo, J. 2010. Selección de microorganismos fúngicos productores de enzimas celulolítica para hidrolizar bagazo de agave (*Agave tequilana*). Tesis. Biólogo. Universidad Michoacana san Nicolás Hidalgo. Morelia, Michoacán México.
5. Constitución del Ecuador. 2008. Texto de la nueva Carta Política del Estado. Publicado en el Registro Oficial 449. Quito- Ecuador. p 80.
6. Costa, F; García, C; Hernández, T y Polo, A. 1991. Residuos orgánicos urbanos. Manejo y utilización. Edición SCIC. Murcia- España. p 181.
7. Chamorro, C. 2001. El suelo maravilloso teatro de la vida. Rev.Acad. Colombia ciencia. Vol. 25. 484-486.
8. Enciclopedia agropecuaria. 2005. Agricultura Ecológica. Terranova Editores, Ltda. Bogotá, D.C, Colombia. p 21-30.
9. Gaitán, D. y Pérez, L 2007 "Aislamiento y evaluación de microorganismos celulíticos a partir de residuos vegetales frescos y en compost generados en un cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*)". Trabajo de grado para optar al título de Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia. p 64.
10. Gamboa, M. Hernández, F. García, J. Rodríguez, E. 2006. Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio. 1 Ed. p 149-153. C.R.
11. GTZ. 2007. Agricultura Orgánica en Ecuador. Segunda Edición. p 30.
12. FAO-AG(1999). Cuestiones de la agricultura urbana. Agricultura 21. Resumen del informe "La agricultura urbana y Peri-urbana" presentado ante el comité de agricultura de la FAO (COAG). Roma.
13. Jenkinson, D.S. 1981. The fate of plant and animal residues in soil. In the Chemistry of soil processes. P 505.
14. King Thom Chung and Christine, L. 2001. Case published in SIM NEWS SI (3): P 133-135.
15. Leyva, A. 2007. Reflexiones sobre la agroecológica en Cuba. Análisis de la Biodiversidad. ISBN 978-9597023-8 Formato electrónico INCA, MED. La Habana-Cuba p 20-21.
16. Linares, C. y Monedero, M. 2004. Uso, manejo y conservación de los suelos. 1 ed. La Habana. Cuba. p 6.
17. Mac Carmack, H, Tracy. D, Kapuler, A.1993. The transition document: Toward and environmentally sound agriculture. Third Edition - Oregon Tilth Research and Education Committee USA: OTCO. p 93.
18. Mejía, T. Mújica, F. González, A. Ortega, J. 2002. Proteínas con afinidad a celulosa: una herramienta en biotecnología. Avance y Perspectiva. V 21. p 267.
19. Munevar, F. 1998. Revisión de conceptos básicos sobre el suelo en: ciclo de curso de actualización de conocimientos sobre suelos con

- aplicación en el cultivo de palma de aceite. Módulo 2. Principales características químicas del suelo. Bogotá-Colombia. p 4-11.
20. Núñez, M. 2000 Manual de técnicas agropecuarias. Primera ed. México. P 11-12.
 21. Paneque, V y Calaña, J (2005). Abonos orgánicos: Conceptos prácticos para su evaluación y aplicación. Segunda Edición. La Habana- Cuba. p 54
 22. Paul, E.A and R.P Voroney. 1984. Field interpretation of microbial. Biomass and activity measurements. American Society for Microbiology. Washington, D.C, USA. p 509-514.
 23. Pelczar, M.J y Reid, R.D. 2004. Microbiología. Vol 1. Ediciones del Castillo S.A- Edición en español. La Habana- Cuba. p 13.
 24. Primavesi, A. 1982. El manejo. El manejo ecológico del suelo. La agricultura en regiones tropicales. 5ta Edición. Librería El Ateneo. Buenos Aires- Argentina.
 25. Rutherford, P y Juma, N. 1992. Influence of soil texture on protozoa-induced mineralization of bacterial carbon and nitrogen. Can, J. Soil. Sci; 72:183-200.
 26. Salisbury, F.B y C.W. Ross. 1999. Filosofía vegetal. Interamericana-México
 27. Stevenson, F.J. 1994. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. John Wiley Sons, New York. p 496.
 28. Suquilanda, M. 2007. Agricultura Orgánica. Alternativa Tecnológica del futuro. FUNDAGRO-ABYA YALA. Quito, Ecuador. 3era Ed. p 454.
 29. United Nations. 1998. World urbanization prospects: The 1996 revision. Department for Economic and social Affairs. Population Division. ST/ESA/SER/170. NY.