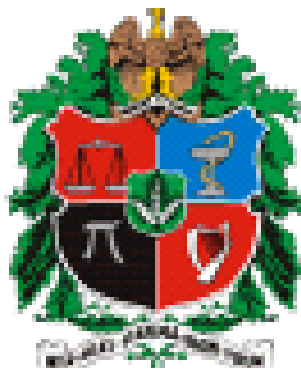


**EFECTO DE VINAZAS SOBRE HONGOS QUE FORMAN MICORRIZA
ARBUSCULAR Y SOBRE FRACCIONES DE MATERIA ORGÁNICA EN UN
MOLISOL DEL VALLE DEL CAUCA**

DIANA CRISTINA VELÁSQUEZ POMAR

Dirigido por:

**MARINA SÁNCHEZ DE PRAGER
INGENIERO AGRÓNOMO PH.D.**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS
SEDE PALMIRA**

2009

**EFFECTO DE VINAZAS SOBRE HONGOS QUE FORMAN MICORRIZA
ARBUSCULAR Y SOBRE FRACCIONES DE MATERIA ORGÁNICA EN UN
MOLISOL DEL VALLE DEL CAUCA**

DIANA CRISTINA VELÁSQUEZ POMAR

Código: 7007006

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE MAGISTER EN CIENCIAS
AGRARIAS, ÉNFASIS EN SUELOS**

Dirigido por:

MARINA SÁNCHEZ DE PRAGER

INGENIERO AGRÓNOMO PH.D.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS

SEDE PALMIRA

2009

**“La facultad y los jurados de la tesis
no se harán responsables de las
Ideas emitidas por el autor”
Artículo 24, resolución 04 de 1974**

A mi familia, fuente de energía constante que siempre me apoya y me da ánimo para continuar. Gracias por iluminar mi camino en compañía de grandes ángeles.

Agradecimientos

Se agradece la financiación de la Dirección Nacional de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, la colaboración y asesoría de los grupos de investigación en “Agroecología” y en “Uso y Manejo de Suelos y Aguas con énfasis en degradación de suelos”, pertenecientes a la Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira.

Igualmente agradezco a todas las personas que confabularon para que este trabajo pudiera realizarse, maestros, laboratoristas, ayudantes de campo y personas que algún día se acercaron a mí, me dieron ánimo y me convencieron de continuar, a mis ángeles, muchas gracias. Aunque las listas de nombres no me agradan mucho, aquí va una muy larga sin muchas explicaciones, pues espero haber sido capaz de transmitirles todo mi agradecimiento en persona.

Doctora Marina Sánchez de Prager, profesores de la sede Juan Carlos Menjivar, Jaime Eduardo Muñoz, Mario García y Edgar Madero. Doctores Ewald Sieverding y Peter Buurman, asesores internacionales. Octavio Mosquera, Neuza Asakawa y Edilfonso del CIAT. Pablo Iván Gallo, Adriana y Johannes, laboratoristas de la sede. Javier Jaramillo del Ingenio Providencia. Viviana Cuaran, Gerson Ramírez, Rubén Naranjo y Pacho, estudiantes auxiliares. Y a mis amigos del posgrado: Ifi, Sandra, Dora, Ana Teresa, Enna, Aracely, Claudia, Oswaldo, Jaime, Giovanni, Carlos Patiño, Constantino, Francisco y Guillermo.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION	2
2. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo general	4
2.2 Objetivos Específicos	4
3. MARCO DE REFERENCIA	5
3.1 Vinazas	5
3.1.1 Algunas investigaciones sobre Vinazas aplicadas al suelo	7
3.1.1.1 Estudios fuera de Colombia.....	7
3.1.1.2 Estudios en Colombia.....	8
3.2 Hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA).....	11
3.2.1 El micelio externo (ME) de los HMA	13
3.3 La glomalina	16
3.4 Fraccionamiento físico de la materia orgánica del suelo (MOS)	18
3.5 Estabilidad de agregados (EA)	20
4. MATERIALES Y METODOS	21
4.1 Localización.....	21
4.2 Diseño experimental	22
4.2.1 Condiciones iniciales.....	22
4.2.2 Descripción de los tratamientos.....	24
4.2.3 Caracterización de la vinaza	25
4.3 Muestreos.....	25
4.4 Variables evaluadas y metodologías utilizadas	26
4.4.1 Longitud de micelio externo (LME).....	26
4.4.2 Micelio externo vivo y activo (MEV)	26
4.4.3 Fracciones de materia orgánica	27
4.4.4 Glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT).....	27
4.4.5 Estabilidad de agregados (EA)	28

4.5	Análisis estadístico	28
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
5.1	Longitud de micelio externo (LME).....	28
5.2	Micelio externo vivo y activo (MEV)	31
5.3	Glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT).....	33
5.3.1	Glomalina fácilmente extractable (GFE).....	33
5.3.2	Glomalina total (GT)	34
5.4	Fraccionamiento físico de materia orgánica (MO).....	36
5.4.1	Fracción liviana (LL).....	37
5.4.2	Fracción mediana (LM).....	38
5.4.3	Fracción pesada (LH)	39
5.5	Estabilidad de agregados del suelo (EA).....	40
5.5.1	Distribución de agregados	40
5.5.2	Diámetro ponderado medio (DPM).....	43
5.6	Correlación entre las diferentes variables.....	44
6.	Consideraciones finales.....	46
7.	CONCLUSIONES	47
	BIBLIOGRAFIA	48
	A N E X O S.....	57

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición elemental de la vinaza del 55% y 10% de s.t.	6
Tabla 2. Efecto de la aplicación sucesiva de vinaza, al 10% de s.t., sobre algunas propiedades químicas de suelos de los ingenios Manuelita y Riopaila.	9
Tabla 3. Análisis químico y físico del suelo utilizado en el experimento.	22
Tabla 4. Descripción de los tratamientos diseñados con vinaza del 19% s.t.	24
Tabla 5. Análisis de vinaza de 19% s.t.	25
Tabla 6. Contenido de glomalina fácilmente extractable (GFE) del suelo, para cada tratamiento en cada época de muestreo.	34
Tabla 7. Contenidos de glomalina total (GT) registrados en otras investigaciones.	35
Tabla 8. Contenido de la fracción mediana de materia orgánica (LM) en el suelo para cada época de muestreo.	38
Tabla 9. Correlaciones entre las diferentes variables (Pearson $P < 0.05$).	45

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructuras del HMA al colonizar la raíz de una planta.	12
Figura 2. Micelio externo (ME) en raíz (R) de maíz.	14
Figura 3. Diseño en campo completamente al azar, con plantas de maíz blanco (<i>Zea Mayz</i>) SV1127, como unidad experimental.	23
Figura 4. Extracción de micelio externo de HMA en filtros de nitrocelulosa – tinción con azul de tripano.	29
Figura 5. Efecto de tratamientos sobre la longitud de micelio externo de HMA asociado a plantas de maíz blanco (<i>Zea Mayz</i>) SV1127 en cada época de muestreo.	30
Figura 6. Extracción de ME vivo y activo de HMA en filtros de nitrocelulosa - tinción de succinato deshidrogenasa (SDH).	31
Figura 7. Efecto de tratamientos sobre el porcentaje de ME vivo y activo de HMA asociado a plantas de maíz blanco (<i>Zea Mayz</i>) SV1127 en cada época de muestreo.	32
Figura 8. Curva estándar para la cuantificación de la glomalina.	33
Figura 9. Efecto de tratamientos sobre el contenido de glomalina total del suelo en cada época de muestreo.	34
Figura 10. Fracciones de materia orgánica aisladas del cultivo de maíz blanco (<i>Zea Mayz</i>) SV1127, a los 70 después de su siembra.	36
Figura 11. Efecto de tratamientos sobre la fracción liviana de MO del suelo en cada época de muestreo.	37
Figura 12. Efecto de tratamientos sobre la fracción pesada de MO del suelo en cada época de muestreo.	39
Figura 13. Distribución de agregados para cada tratamiento en cada época de muestreo.	41
Figura 14. Efecto de tratamientos sobre (A) microagregados de tamaño <0.25 mm y sobre (B) macroagregados de tamaño >2 mm, en cada época de muestreo.	42

Figura 15. Efecto de tratamientos sobre el diámetro ponderado medio en cada época de muestreo. 44

Figura 17. Participación del micelio externo (ME) de los HMA en la formación de agregados en el suelo. 46

RESUMEN

La adición de etanol a la gasolina busca disminuir contaminación ambiental; sin embargo, la producción de etanol genera vinaza, material contaminante en cuerpos de agua. Por su alta concentración de K y potencialidades como fertilizante, los ingenios azucareros del Valle del Cauca adelantan investigaciones en vinaza, dirigidas a evaluar efectos sobre productividad y sobre propiedades químicas y físicas del suelo. Son escasas las publicaciones sobre su influencia en propiedades biológicas como hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) y materia orgánica (MO), componentes sensibles a cambios y estrechamente asociados con nutrición de las plantas y con condiciones físicas del suelo como la estabilidad de agregados. Con el fin de conocer si dichas propiedades se afectan por vinazas, se sembró maíz blanco (*Zea Mays* SV1127), en un Pachic Haplustolls del Valle de Cauca deficiente en K. En invernadero y bajo un diseño completamente al azar, se establecieron cinco tratamientos: un testigo absoluto y cuatro correspondientes a aplicaciones de vinaza:KCl, en proporciones de 100:0, 75:25, 50:50 y 0:100. A los 36 y 70 días después de la siembra, se estimaron las variables longitud de micelio externo (LME) – Miller and Jastrow (1992); Tennant (1975), micelio externo vivo y activo (MEV) – Hamel *et al.*, 1990, glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT) – Wright and Upadhyaya (1998); Bradford (1976), fracciones liviana (LL), mediana (LM) y pesada (LH) de materia orgánica – Meijboom *et al.*, 1995; Barrios *et al.*, 1996 y estabilidad de agregados (EA) – método de Tulin, modificado por Yoder. Con excepción de GFE y LM, las demás las variables respondieron significativamente a los tratamientos. Los resultados mostraron que la expresión de las variables LME, GT, LL y EA se favoreció por la aplicación de vinaza en sus diferentes dosis, obedeciendo posiblemente al contenido de compuestos orgánicos y electrolitos de la vinaza. Las correlaciones altamente significativas entre las fracciones de MO y MEV y entre LME y agregación del suelo corroboran la estrecha relación entre propiedades físicas, químicas y biológicas que deben ser consideradas en trabajos de campo.

1. INTRODUCCION

El mundo encara consumos energéticos que aumentan a ritmos acelerados e influyen en la generación de gases con efecto invernadero (GEIs), el cambio climático global (IPCC, 2007) y en los recursos naturales, su uso y manejo.

Según Asocaña (2005) y Quintero *et al.*, 2006, una de las alternativas para contribuir en la disminución de emisiones de GEIs es la adición de alcohol carburante a la gasolina, alternativa que Colombia adoptó mediante la expedición de la Ley 693 del 2001. El Valle del Cauca donde se encuentran la mayoría de ingenios azucareros del país, fue el departamento pionero en esta tecnología que hoy se extiende a varias regiones (Gnecco, 2004; Mancheno, 2006; Higuera *et al.*, 2007).

La producción de alcohol carburante requiere del uso de biomasa vegetal y genera un subproducto denominado vinaza, de composición variable según provenga de melaza de caña, jugo o la mezcla de ambos. En términos generales es rica en nitrógeno, potasio, calcio, azufre y pobre en fósforo (Korndörfer *et al.*, 2004; Quintero *et al.*, 2006). Al año 2008, los ingenios lograron concentraciones de la vinaza entre valores de 15 a 20 % de sólidos totales (s.t.), generando de uno a dos litros de ésta por cada litro de alcohol producido (Ingenio Providencia).

La vinaza tiene un contenido elevado de componentes orgánicos, el valor de DBO₅ (Demanda Bioquímica de Oxígeno) para un contenido de s.t. del 10% m/m, puede ser de 41200 ppm, cifra que aumenta con la concentración de s.t., de manera que se constituye en material altamente contaminante si se dispone directamente a un cuerpo de agua (Korndörfer *et al.*, 2004; García y Rojas, 2006).

Debido a las altas cantidades de este subproducto generadas en el país, se han buscado opciones para su disposición final. En el Valle del Cauca, una de las mas usadas ha sido su adición al suelo como fuente de potasio en cultivos de caña de azúcar (Gnecco, 2004; Mancheno, 2006; Higuera *et al.*, 2007). Aquí los ingenios azucareros han iniciado trabajos de investigación en vinazas dirigidos a proveer bases científicas a su uso como fertilizante, como mejoradoras de las condiciones químicas del suelo y como activadoras de la descomposición de residuos de cosechas (García y Rojas, 2006).

En Colombia son escasas las publicaciones acerca de efectos de la vinaza sobre algunas propiedades biológicas y físicas de los suelos, tales como hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) y moléculas que producen tales como la glomalina, el fraccionamiento físico de la materia orgánica y la estabilidad de los agregados del suelo, componentes sensibles a cambios y estrechamente asociados con el desarrollo de las plantas y sostenibilidad de los agroecosistemas.

Los materiales orgánicos que llegan al suelo se fraccionan mediante procesos físicos, químicos y bioquímicos liberando los nutrientes almacenados en ellos, los cuales quedan a disponibilidad de las plantas, de los organismos del suelo y de los HMA (Labrador, 2001; Essington, 2004; Abiven *et al.*, 2007), siendo estos últimos quienes hacen más eficiente el transporte de nutrientes al sistema radical micorrizado, especialmente en el caso de aquellos de acceso limitado como P, Cu, Zn y amonio (Ferrol *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2007).

En este proceso de degradación de la materia orgánica (MO) se modifican las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Así, la agregación y su influencia sobre el movimiento de agua, aire, gases en general y de los mismos nutrientes, se ve afectada por los HMA y éstos a su vez por el fraccionamiento de la MO, en una red de interacciones que se presentan en el suelo y que se manifiestan en productividad, sanidad y sostenibilidad de los agroecosistemas (Capra, 2003; Sánchez de P. *et al.*, 2007). De allí la importancia del estudio de insumos como la vinaza y sus posibles efectos sobre estas variables y sus interacciones.

Precisamente dentro de este enfoque sistémico, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de diferentes dosis de vinaza sobre HMA, el fraccionamiento físico de materia orgánica, la estabilidad de agregados y sus interrelaciones en un Molisol del Valle del Cauca.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de diferentes dosis de vinaza sobre HMA, el fraccionamiento físico de materia orgánica, la estabilidad de agregados y sus interrelaciones en un Pachic Haplustolls del Valle del Cauca.

2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la longitud del micelio externo (LME) y el porcentaje de micelio vivo y activo de HMA (MEV) bajo la aplicación de tres dosis de vinaza.
- Evaluar la producción de glomalina de HMA, en términos de glomalina total (GT) y glomalina fácilmente extractable (GFE) bajo la aplicación de tres dosis de vinaza.
- Evaluar las fracciones físicas de materia orgánica, liviana (LL), mediana (LM) y pesada (LH) bajo la aplicación de tres dosis de vinaza.
- Evaluar la estabilidad de agregados del suelo (EA) bajo la aplicación de tres dosis de vinaza.
- Evaluar las posibles correlaciones entre las variables anteriormente estimadas bajo la aplicación de tres dosis de vinaza.

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Vinazas

La vinaza es subproducto de la fermentación de azúcares presentes en la biomasa vegetal, durante el proceso de obtención del alcohol. Se ha caracterizado como “suspensión de color marrón, olor desagradable, ácida (pH de 3.5 - 4.5) y con propiedades corrosivas debido a la presencia de ácido sulfúrico libre (utilizado en la fermentación)” (Korndörfer *et al.*, 2004). En promedio la vinaza contiene 93% de agua, el 75% de los sólidos son orgánicos, y dentro de los inorgánicos, el 64% corresponde a potasio (Ocampo, 2004).

Ocampo (2004) y Quintero *et al.*, 2006, indican que la composición de la vinaza es variable, según provenga de melaza, jugo o la mezcla de ambos, del tipo y eficiencia de la fermentación y destilación y de las variedades y maduración de la caña.

A pesar de lo anterior pueden mencionarse algunos de los constituyentes generalmente encontrados en la vinaza (Berón, 2006; García y Rojas, 2006): (a) sustancias inorgánicas solubles en las cuales predominan los iones de K^+ , Ca^+ y SO_4^{2-} , (b) células muertas de levadura, (c) sustancias orgánicas resultantes de los procesos metabólicos de levaduras y microorganismos, (d) alcohol y azúcar residual, (e) sustancias orgánicas insolubles y (f) sustancias orgánicas volátiles.

García y Rojas (2006) reportan la composición elemental de vinazas del 55% y 10% de sólidos totales (s.t.) (Tabla 1). Resaltan que K y S se encuentran en cantidades altas, mientras que los demás nutrientes se encuentran en cantidades bajas, lo que implica bajo poder fertilizante y la necesidad de aplicar cantidades elevadas de vinaza para suplir los requerimientos de los cultivos.

Tabla 1. Composición elemental de la vinaza del 55% y 10% de s.t.

Característica	Vinaza 55% s.t.	Vinaza 10% s.t.
N (Kg/m ³)	4.30	0.88
P (Kg/m ³)	0.22	0.07
K (Kg/m ³)	34.03	6.53
Ca (Kg/m ³)	5.00	1.47
Mg (Kg/m ³)	5.40	1.08
S (Kg/m ³)	11.55	1.28
pH	4.3 – 4.5	3.9
CE (ds/m)	17	11.0

Adaptado de García y Rojas (2006).

De acuerdo con Morales (2004) la disposición de la vinaza ha sido uno de los grandes retos de la industria alcoquímica. Durante los últimos años se han evaluado y desarrollado aplicaciones de fertirrigación, producción de compost, recuperación de suelos, vinaza para alimentación animal, biodegradación mediante procesos de fermentación anaerobia y aerobia y como medio de cultivo para la producción de proteína unicelular.

Quintero *et al.*, 2006, sostiene que muchas de las investigaciones se han enfocado en la caracterización de este subproducto, su efecto sobre propiedades químicas del suelo y su posible uso como fertilizante, pocas investigaciones se han centrado en los efectos de ésta sobre las propiedades biológicas del suelo.

García y Rojas (2006) mencionan que en el suelo la vinaza puede tener efectos positivos al incrementar el contenido de potasio y la actividad microbiológica y en algunos casos recuperar suelos sódicos, entre otros beneficios; mientras que en el agua, la vinaza se convierte en un contaminante. Ocampo (2004) sostiene que la materia orgánica de la vinaza se descompone con relativa facilidad, motivo por el cual si ésta se descarga en corrientes de agua el contenido de oxígeno disuelto disminuye radicalmente, ya que se consume en el proceso de oxidación de la materia orgánica.

3.1.1 Algunas investigaciones sobre Vinazas aplicadas al suelo

3.1.1.1 Estudios fuera de Colombia

Rodríguez *et al.*, 1999, en Costa Rica, evaluaron dosis crecientes de vinaza en columnas de suelo pertenecientes a dos órdenes: Dystric haplustands y Ustic humitropept. Transcurridos 105 días después de la aplicación de la vinaza, encontraron que en Dystric haplustands, las mayores dosis de vinaza utilizadas 300, 400 y 500 m³/ha, ocasionaron aumentos en los contenidos de las diferentes variables químicas examinadas (pH, P, K, Ca, Mg, S, Mn, materia orgánica, bicarbonatos, bases totales, cloruros, conductividad eléctrica y la CIC). Los contenidos de las variables químicas analizadas en ambos suelos, muestran su mayor concentración en los primeros 60 cm de profundidad, siendo mayor de 0 a 20 cm. Los autores también destacan que las mayores dosis empleadas presentaron una relación directa con el desarrollo de microorganismos como hongos y bacterias.

En Brasil, Tenório *et al.*, 2000, seleccionaron dos tipos de suelos dedicados al cultivo de la caña de azúcar los cuales fueron enmendados con dosis de vinaza de 30, 60 y 90 m³/ha, sin compostaje previo. Los suelos fueron incubados en condiciones de laboratorio según el método de Gucker durante 39 días. Con la dosis de 90 m³/ha se dio la menor actividad biológica, muy próxima a la del testigo; pero en ninguno de los casos observaron inhibición de la actividad biológica en términos de mineralización de la materia orgánica.

Zuñiga *et al.*, 2000, estudiaron los cambios químicos en un Acrisol y un Fluvisol en México, por la aplicación de vinaza cruda (VC), vinaza tratada aerobicamente (VA) y vinaza tratada anaerobia-aerobiamente (VAA). En condiciones de invernadero realizaron evaluaciones durante un mes, luego de aplicar 100 ml de vinaza por maceta.

El tratamiento aplicado a la vinaza generó efectos distintos en las propiedades químicas de los suelos estudiados. En el Acrisol la aplicación de la VC generó aumentos adecuados en el valor

de pH, Fe y P; pero constituyó un riesgo de salinización y de contaminación por Zn y Mn. En el Fluvisol la VC provocó riesgos de salinización y aumentos del Mn y del P. La VA y VAA no mostraron riesgos de salinización en los suelos estudiados (Zuñiga *et al.*, 2000).

En España, Madejón *et al.*, 2001, investigaron el efecto de la aplicación de vinaza compostada sobre algunas propiedades químicas de un Cambisol y sobre el rendimiento de los cultivos de maíz (*Zea mays L.*), remolacha (*Beta vulgaris L.*) y girasol (*Helianthus annuus L.*), luego de dos años de aplicación. Al final del periodo experimental, encontraron que el porcentaje de carbono oxidable y el contenido de ácidos húmicos se incrementaron considerablemente en los tratamientos con aplicación de vinaza compostada al compararlos con el control. También hallaron un ligero aumento de la salinidad del suelo; pero ésta no presentó niveles peligrosos. Concluyen que la vinaza compostada puede ser una alternativa para su disposición final en los cultivos.

En España, Tejada *et al.*, 2007, evaluaron los efectos de la aplicación anual al suelo de vinaza fresca y compostada, en cantidades de 5.0, 7.5 y 10.0 t/ha (expresadas como contenidos de materia orgánica), durante un periodo de cuatro años. Encontraron que la aplicación de vinaza fresca tuvo un efecto detrimental sobre la estabilidad estructural, la densidad aparente del suelo y las propiedades biológicas como biomasa, respiración y actividad enzimática microbial, mientras que los tratamientos con aplicación de vinaza compostada tuvieron un efecto positivo sobre las mismas variables.

3.1.1.2 Estudios en Colombia

En el año 2003 CENICAÑA inició investigaciones en los ingenios Manuelita y Riopaila, con el fin de establecer el efecto de aplicaciones sucesivas de vinaza (realizadas allí durante 20 años), sobre la producción de caña de azúcar, contenidos de sacarosa y propiedades químicas del suelo (Quintero, 2004).

Las cantidades de vinaza aplicadas por corte de caña, en el Ingenio Manuelita fueron aproximadamente de 425 m³/ha y en el Ingenio Riopaila, 390 m³/ha aproximadamente. En la Tabla 2 se observa el efecto de la aplicación sucesiva de vinaza, al 10% de s.t., sobre algunas propiedades químicas de los suelos estudiados (Quintero, 2004).

Tabla 2. Efecto de la aplicación sucesiva de vinaza, al 10% de s.t., sobre algunas propiedades químicas de suelos de los ingenios Manuelita y Riopaila.

Propiedad	Profundidad 0-20 cm		Profundidad 20-40 cm	
	Sin vinaza	Con vinaza	Sin vinaza	Con vinaza
pH	6.63	6.68	6.80	6.83
MO (%)	3.19	3.35	2.61	2.68
P (ppm)	28.30	50.40	23.72	28.60
Ca (cmol/Kg)	17.35	16.59	16.02	17.51
Mg (cmol/Kg)	8.98	9.23	8.46	9.80
K (cmol/Kg)	0.40	0.70	0.37	0.49
Na (cmol/Kg)	0.21	0.34	0.23	0.39
C.E (ds/m)	0.39	0.44	0.23	0.41
(Ca+Mg)/K	66.0	37.0	66.0	67.0

Quintero (2004) señala que los mayores efectos se detectaron en los primeros 20 cm de profundidad, donde la vinaza ocasionó un ligero aumento en la cantidad de materia orgánica (MO), Mg y Na intercambiables y en la conductividad eléctrica, y se incrementaron notoriamente los contenidos de P disponible y de K intercambiable en ambas profundidades. Los incrementos en el K generaron una disminución de la relación (Ca+Mg)/K intercambiables en los primeros 20 cm de profundidad, lo cual indica mejor balance de los cationes intercambiables y mayor facilidad en la absorción del K por parte del cultivo.

En Popayán, Lotero (2006) evaluó el efecto de la aplicación de vinaza al 60% de s.t., bovinaza y fertilizante químico convencional, solos o en diferentes proporciones, sobre algunas propiedades físicas, químicas y biológicas de un Andisol, y su relación con el

establecimiento y producción inicial de forraje de *Maralfalfa Pennisetum sp*, en condiciones de campo. Las aplicaciones de vinaza oscilaron entre 87 y 173 Kg/ha.

Luego de 60 días de investigación la autora encontró que los tratamientos afectaron de diferentes formas las poblaciones de microorganismos y resalta que los tratamientos con aplicación de 100% vinaza y de 100% bovinaza promovieron la actividad microbiana, con mayor efecto de la vinaza que de la bovinaza. También concluye que las propiedades físicas y químicas no se vieron afectadas por los tratamientos aplicados. En cuanto al rendimiento del pasto Maralfalfa, el mayor se obtuvo con la mezcla bovinaza y fertilizante químico en proporción 3:1.

En un cultivo de maíz dulce (*Zea mays L.*) bajo condiciones de invernadero, Narváez (2008) investigó el efecto de la aplicación de dos fuentes de potasio sobre la actividad de los enzimas fosfatasas y deshidrogenasas, en dos suelos del Valle de Cauca (Inceptisol y Molisol). Los tratamientos usados fueron: aplicación 100% de cloruro de potasio (KCl), 100% de vinaza (25% de s.t.) y mezcla de los dos, en relaciones 50:50 y 25:75.

Luego de 76 días de estudio, Narváez (2008), concluye que la aplicación de diferentes fuentes de potasio, a partir de KCl, vinaza y la combinación de ambos, afectó las condiciones fisicoquímicas y biológicas de los suelos. La actividad de los enzimas fosfatasas alcalinas, fosfatasas ácidas y deshidrogenasas variaron dependiendo de las condiciones de suelo, edad de las plantas y en algunos casos de la fuente utilizada. La autora destaca que la aplicación de vinazas disminuyó la actividad de las fosfatasas en comparación con los demás tratamientos, opuesto a reportes que indican que la incorporación de estas enmiendas orgánicas puede estimular la actividad enzimática.

En el mismo ensayo, Montenegro (2008) evaluó el efecto de la aplicación de vinazas sobre la presencia, actividad y biomasa microbiana. Sus resultados muestran que la vinaza afectó significativamente tales variables, según el tipo de suelo y la época de muestreo, donde el

aporte de nutrientes de la vinaza para las diferentes comunidades microbianas influyó considerablemente.

Montenegro (2008) destaca una tendencia a la disminución de bacterias a través del tiempo de estudio (76 días), en los suelos sin aplicación vinaza y con 50% de la misma, además de una disminución de hongos con aplicación de vinaza en cantidades del 50% y 75%.

En la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, Rojas *et al.*, 2008, evaluaron los cambios en la conductividad hidráulica saturada (Ks) con vinaza de 3 °Brix, de 5.3 °Brix y de 6.1 °Brix, en un suelo del Valle del Cauca (Ustipsamment típico arenoso isohipertérmico). Concluyen que la tendencia fue a la disminución de la Ks con el aumento de la concentración de vinaza, lo que les permitió inferir que “la vinaza, al poseer alta carga orgánica, interactúa con la fracción mineral del suelo y puede ser en parte responsable del retardo del movimiento del fluido en la matriz del suelo al producirse un posible fenómeno de adsorción”.

3.2 Hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA)

La micorriza arbuscular se encuentra en las raíces de aproximadamente el 80% de todas las especies vegetales terrestres que se han examinado, por lo que se considera una simbiosis casi universal; pero no específica (Madigan *et al.*, 2004). La planta hospedera cede al HMA fuentes de carbono y un lugar donde sus estructuras internas estén protegidas contra patógenos, a cambio el hongo provee a la planta con nutrientes que ha absorbido del suelo (Douds *et al.*, 2007; Sánchez de P. *et al.*, 2007).

Los HMA son biotrofos obligados, los cuales forman estructuras dentro y fuera de la planta hospedera. Las fuentes de inóculo de HMA pueden ser esporas, trozos de micelio (hifas) y raíces micorrizadas. Cuando las esporas de HMA germinan dan origen a las hifas, las cuales se ramifican hasta alcanzar la superficie radical donde forman un apresorio que facilita su penetración en la epidermis para crecer luego en el tejido cortical. Una vez en el cortex, las hifas intraradicales penetran las células y forman los arbusculos, estructuras muy ramificadas

donde ocurre el mayor intercambio de nutrientes (Figura 1). Cuando el HMA tiene su fuente de carbohidratos asegurada, las hifas extraradicales o micelio externo (ME) pueden proliferar en el suelo, el cual es el encargado de la captación de solutos del suelo y su traslado a la raíz, al igual que en el caso de las ectomicorrizas (Douds *et al.*, 2007; Sánchez de P. *et al.*, 2007; Brundrett, 2008;).

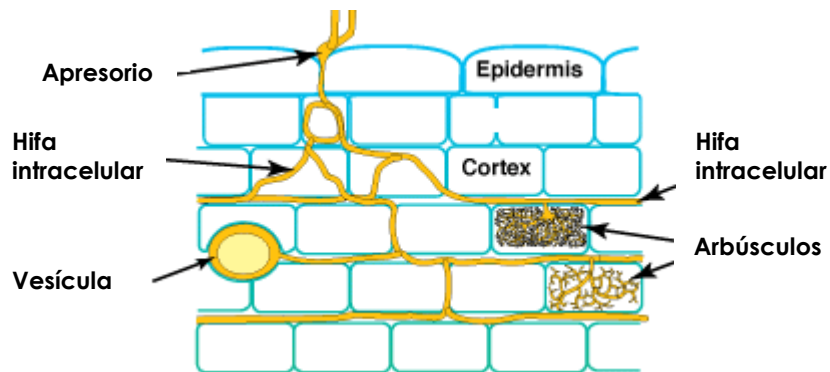


Figura 1. Estructuras del HMA al colonizar la raíz de una planta.

Fuente: Brundrett (2008).

De acuerdo con Miller *et al.*, 1995 y Johnson *et al.*, 2007, a niveles altos de nitrógeno (N) y fósforo (P) disponibles en el suelo, la biomasa micorrizal se reduce debido a que las plantas asignan una menor cantidad de fotosintatos al hongo y más a su parte aérea pues no sufren por deficiencia de tales nutrientes. Aunque Miller *et al.*, 1995, aclara que niveles altos de fertilización fosforada no necesariamente reducen las micorrizas a niveles traza y que los resultados pueden variar según el tipo de suelo, el patrón temporal de colonización, la absorción de P con relación a los requerimientos del cultivo y la concentración de P en la planta mas que en el suelo.

Factores como salinidad, aridez, inundaciones y prácticas de manejo como la labranza, también pueden afectar la simbiosis entre los HMA y las raíces de las plantas. La mayoría de estudios sobre micorrizas en suelos disturbados, han reportado niveles bajos de propágulos

(Sánchez de P. *et al.*, 2007; Brundrett, 2008). De acuerdo con Miller *et al.*, 1995, la degradación del suelo ocasiona pérdida de la estructura del mismo, de manera que la integridad del ME se destruye al romper la macroestructura, lo que a su vez reduce la capacidad de colonización del hongo.

Aunque los conocimientos más avanzados sobre MA se han centrado en la importancia que reviste esta simbiosis en la absorción de P, diversos investigadores registran estudios bajo condiciones ambientales diferentes, los cuales confirman el movimiento de nutrientes como Cu, Zn y amonio, vía MA (Ferrol *et al.*, 2002; Sánchez de P. y Velásquez, 2008).

En términos generales, los HMA generan condiciones favorables para el ecosistema tales como protección de las plantas contra patógenos, son fuente de alimento para invertebrados del suelo, influyen en las poblaciones microbianas, contribuyen con el almacenamiento de carbono, mejoran la estructura del suelo y la capacidad de absorción de agua y nutrientes de las plantas (Rillig and Mummey, 2006; Douds *et al.*, 2007; Sánchez de P. *et al.*, 2007; Brundrett, 2008).

Lo anterior puede proporcionarnos una idea para explicar porque los HMA son considerados como estrategia adaptativa fundamental para los ecosistemas, donde el ME cumple funciones claves (Sánchez de P. y Velásquez, 2008).

3.2.1 El micelio externo (ME) de los HMA

Las hifas en el suelo o micelio externo (Figura 2), es el responsable de la propagación de la simbiosis y la formación de esporas, éste conforma una estructura filamentosa y ramificada que le permite a la planta hospedera aumentar el volumen de suelo a explorar y por tanto, absorber agua y nutrientes que de otra forma no serían disponibles para la planta (Miller and Jastrow, 2000; Brundrett, 2008).

El micelio se origina como parte del proceso de colonización con la germinación de las esporas, las cuales tienen una capacidad limitada para crecer, y mueren dentro de una semana o menos si no encuentran una raíz para colonizar (Brundrett, 2008).

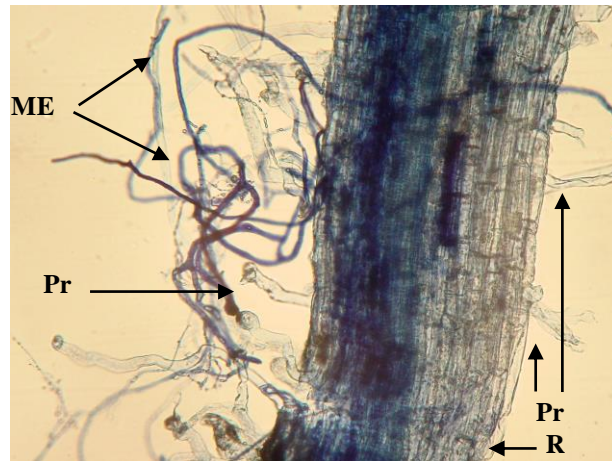


Figura 2. Micelio externo (ME) en raíz (R) de maíz. Se observa además, la presencia de abundantes pelos radicales (Pr).

Fuente: Mondragón, Ceballos y Sánchez de P., 2005

El ME posee hifas gruesas de más de $27\ \mu$ de diámetro, principalmente se caracterizan porque sirven de soporte y base temporal al tejido micelial en el suelo, aunque también pueden absorber nutrientes, se les denomina hifas “runner”, éstas a su vez dan origen a hifas delgadas, 2 a $7\ \mu$ de diámetro, que se dividen dicotómicamente y se extienden en el suelo, cuya función se centra en la absorción de nutrientes para transportarlos a la planta hospedera, denominadas hifas absorbentes (Sánchez de P. *et al.*, 2007).

El ME por longitud, expansión y grosor puede explorar los poros mas finos del suelo y extenderse más allá de la zona de agotamiento formada alrededor de la raíz (Kabir *et al.*, 1998; Sánchez de P. *et al.*, 2007), permitiendo que la planta absorba nutrientes que sus pelos radicales o raíces son incapaces de absorber. También permite que cuando el ME muere, los

nutrientes que lo constituyen se reciclen como materia orgánica biodegradable (Sánchez de P. y Velásquez, 2008).

En general se ha encontrado que la longitud del ME (m/g de suelo seco) varía con la condición de suelo, cuanto más pobre más va a depender de la red micelial para tomar los nutrientes, las prácticas agronómicas también influyen su presencia, al igual que la materia orgánica del suelo, las plantas hospederas y las acompañantes (Reyes, 2001; Zárate *et al.*, 2006). Al respecto, Sánchez de P. y Velásquez (2008), registran la longitud de ME hallada en algunas investigaciones en suelos de Colombia.

Sylvia (1988) indica que para un mejor entendimiento del transporte de nutrientes a través del ME, la evaluación de su actividad micorrizal debería ser un indicador útil, pues dicho transporte requiere de un sistema de hifas vivas.

Abdel-Fattah (2001) confirma que la identificación de enzimas como la fosfatasa alcalina (ALP) y la succinato deshidrogenasa (SDH), mediante tinción, resultaron útiles para evaluar la actividad micorrizal y su relación con la efectividad en la nutrición y el crecimiento de plantas de soya (*Glycine max*).

Además de la participación del ME en la nutrición de las plantas otros autores resaltan su influencia en la agregación del suelo, lo que es significativo pues dicha propiedad media en la fertilidad del suelo, su contenido de agua, la penetración de las raíces y su potencial de resistencia frente a la erosión (Labrador, 2001; Rillig and Mummey, 2006; Johnson *et al.*, 2007).

La profusa ramificación del ME y su organización en el suelo como telarañas lleva a que se establezcan redes que atrapan las partículas primarias de suelo (arenas, limos, arcillas) y la materia orgánica, para formar marañas con estos integrantes, dando origen a microagregados y posteriormente a macroagregados, unidades que definen la estructura del suelo (Beare *et al.*, 1997; Tisdall and Oades, 1982).

Rillig and Mummey (2006), destacan tres mecanismos de los HMA que podrían influir en la agregación del suelo: biológicos, biofísicos y bioquímicos. Los primeros se relacionan con la influencia que tienen los HMA sobre otros microorganismos del suelo, en la medida en que los productos generados por los HMA sirven como sustrato para las comunidades microbianas que también actúan sobre la agregación de partículas (Rillig and Mummey, 2006; Abiven *et al.*, 2007).

Los mecanismos biofísicos implican que las hifas, al igual que las raíces de las plantas, actúan como marañas, que físicamente unen partículas primarias del suelo, materiales orgánicos y pequeños agregados facilitando la formación de macroagregados (Beare *et al.*, 1997; Miller and Jastrow, 2000 y Rillig and Mummey, 2006).

Los mecanismos bioquímicos hacen referencia a compuestos que actúan como pegante, por ejemplo mucilagos, polisacáridos y glicoproteínas (Beare *et al.*, 1997; Miller and Jastrow, 2000 y Rillig and Mummey, 2006); los cuales pueden ser secretados al suelo o contenidos en las paredes de las hifas (que finalmente serán descompuestas liberando sus contenidos) (Tisdall and Oades, 1982).

Al parecer una glicoproteína denominada glomalina puede estar incluida en este último grupo, tal como lo reportan Wright and Upadhyaya (1996) y Rillig *et al.*, 2003, luego de hallar correlaciones positivas entre ésta y la estabilidad de agregados.

3.3 La glomalina

Wright *et al.*, 1996, encontraron abundante material inmunoreactivo sobre la superficie de hifas de nueve especies de HMAs, durante colonización activa de plantas de *Zea mays* L. y *Sorghum sudanense*. El uso del anticuerpo monoclonal 32B11 y electroforesis (SDS-PAGE)

permitieron detectar dicho material, posteriormente denominado como glomalina, evidenciando el mismo patrón de bandas para las nueve especies de hongos.

Actualmente, la glomalina puede dividirse en dos compartimientos, glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT), definidos operacionalmente según el proceso de extracción con citrato de sodio y alta temperatura (121°C), donde la cuantificación se realiza posteriormente por el método de Bradford (1976) para proteínas (Wright and Upadhyaya, 1996).

Rillig and Steinberg (2002) señalan que si bien la cuantificación por Bradford no es específica para glomalina, deben considerarse dos hallazgos importantes: (1) el calor al cual es sometido el extracto (121°C) elimina cualquier proteína no estable a dicha temperatura y (2) el extracto con citrato de sodio no contiene cantidades significativas de otras proteínas tal como le demostraron Rillig *et al.*, 2001, mediante electroforesis (SDS-PAGE).

De acuerdo con Wright and Upadhyaya (1998), la glomalina solo es producida por HMA, la cual esta conformada por oligosacaridos unidos al N, contiene Fe y posee algunas características de hidrofobinas (pequeñas proteínas producidas por los hongos).

Hasta el momento son varias las hipótesis planteadas acerca de la función de la glomalina, muchos investigadores establecen una correlación positiva de ésta con la agregación del suelo y otros formulan hipótesis diferentes.

Wright and Upadhyaya (1996) especulan que las características recalcitrantes e hidrofóbicas de la glomalina podrían conferirle un papel importante en la agregación del suelo, dados los resultados que obtuvieron: alta correlación entre esta glicoproteína y la estabilidad de agregados en suelos de diferentes localidades y con diferentes historias de uso.

En trabajos posteriores Wright and Upadhyaya (1998), plantean que la glomalina puede ser producida para crear un ambiente favorable para el crecimiento de las plantas hospederas, ya que los HMA al ser biotrofos obligados deben asegurar la sobrevivencia de sus hospederas.

También señalan que posiblemente la glomalina solo contribuya a la hidrofobicidad de las partículas del suelo para permitir la penetración del aire y del agua.

Driver *et al.*, 2005, sugieren que la función de la glomalina puede estar mas asociada con la vida del micelio que con su papel en el suelo, pues sus resultados mostraron que cerca del 80% de la glomalina estaba contenida (y fuertemente adherida), en las hifas y esporas, comparada con la glomalina liberada al medio.

Investigaciones genéticas realizadas por Rillig and Mummey (2006), develaron una homología entre la glomalina y las proteínas generadas por los hongos ante el estrés, insinuando que la secreción de la glomalina tiene un papel en la vida del hongo y que su participación en la agregación del suelo es algo secundario.

3.4 Fraccionamiento físico de la materia orgánica del suelo (MOS)

Diversos investigadores argumentan que el contenido de materia orgánica (MO) es indicador importante de la calidad del suelo, íntimamente ligado con el mejoramiento o disminución de su fertilidad y productividad (Brown *et al.*, 1994).

La MO que en forma natural llega al suelo es predominantemente de origen vegetal (raíces vivas o muertas, fragmentos de troncos o ramas, tallos, hojas, frutos y semillas). Conserva inicialmente su estructura, la cual se transforma rápidamente por la intervención de los organismos del suelo dependiendo de su composición química y de las condiciones ambientales del lugar (Labrador, 2001; Pansu and Gautheyrou, 2006).

Los métodos químicos comúnmente usados para estimar y caracterizar la MOS, pueden ser de uso limitado para comprender y relacionar la dinámica de ésta con la disponibilidad de nutrientes, debido a que tales metodologías no valoran la actividad biológica de las fracciones de la MOS (Barrios *et al.*, 1996; Gregorich *et al.*, 2006). Por ello, es necesario recurrir a

metodologías complementarias como el fraccionamiento físico (Elliott and Cambardella, 1991; Christensen, 2001).

El fraccionamiento físico de MO es un método que ha ido en aumento gracias a que permite inferir sobre su ciclaje, el cual es un proceso biológico con tasas de descomposición que dependen de la naturaleza química del sustrato, de su asociación con componentes minerales del suelo y del arreglo espacial que conformen, lo que finalmente determina la bioaccesibilidad, prerrequisito indispensable para la descomposición de la MOS (Elliott and Cambardella, 1991; Woomer *et al.*, 1994, von Lützow *et al.*, 2007).

Según Barrios *et al.*, 1996; Christensen, 2001 y von Lützow *et al.*, 2007 la MOS puede dividirse en compartimientos que poseen características distintas, según su interacción con compuestos inorgánicos del suelo. Sus observaciones indican que las partículas de tamaño arena exhiben enlaces débiles con la MO, lo que facilita procesos de descomposición, mientras que las partículas de tamaño arcilla (por ejemplo sesquióxidos) exhiben una alta superficie específica y numerosos sitios reactivos donde la MO puede ser adsorbida fuertemente, mediante intercambio de ligandos y establecimiento de puentes con cationes polivalentes, lo cual dificulta la descomposición.

Así, asumiendo la adsorción como un mecanismo de estabilización importante, la MOS dentro de la fracción de tamaño arena es asignada al compartimiento activo y la MOS en limos y arcillas es asignada a las fracciones mediana y pesada (von Lützow *et al.*, 2007). Esta forma de estimar los contenidos de MOS puede realizarse mediante disrupción de la estructura de suelo, seguida por separación de la MO en fracciones físicas basadas en el tamaño, en la densidad o ambas (Elliott and Cambardella, 1991).

Meijboom *et al.*, 1995 propusieron un método de fraccionamiento por tamaño-densidad usando una suspensión de sílica estable (Ludox). Este método permite obtener tres fracciones de MO: la liviana (LL), la pesada (LH) y la mediana (LM). LL esta libre de minerales y es conformada por residuos de plantas parcialmente descompuestos, tiene radio C:N alto y su

ciclaje es relativamente rápido, LH por el contrario tiene un radio C:N estrecho, ciclaje lento y una densidad específica mayor que LL, debido a su íntima asociación con minerales del suelo, LM posee características intermedias.

De acuerdo con Wooster *et al.*, 1994 la comparación entre LL y LH muestra que la primera presenta mayores contenidos de C y N y puede ser considerada parte del compartimiento de la MOS biológicamente activa, lo que implica mayor disponibilidad de nutrientes para las plantas, adicional a esto menciona que el fraccionamiento físico de MO, permite obtener indicadores biológicos sensibles a cambios por efecto del sistema de manejo de los agroecosistemas.

3.5 Estabilidad de agregados (EA)

Las partículas primarias del suelo (arena, limo y arcilla) están ensambladas entre sí formando unidades de mayor tamaño llamadas agregados, unidades estructurales o peds, el arreglo que se produce con estos sólidos se denomina estructura del suelo (Montenegro y Malagón, 1990; Narro, 1994).

La formación de agregados en el suelo depende principalmente de fuerzas de cohesión de partículas finas como los coloides y de las fuerzas que generan la organización y la retención de partículas primarias. Dentro de estas fuerzas o factores se encuentran coloides orgánicos e inorgánicos, cationes intercambiables como calcio, magnesio y potasio, sesquióxidos de hierro y aluminio, micro y macroorganismos, materia orgánica y raíces (Narro, 1994).

Aunque la formación de la estructura es un proceso fundamental en el suelo, su persistencia frente a agentes perturbadores, es decir la estabilidad estructural, es indispensable para tener un medio físico edáfico adecuado. La estabilidad estructural es la que define en gran medida, la intensidad, el tipo de uso y manejo y es la que más determina su resistencia al deterioro y a la erosión (Jaramillo, 2002). Como factores que pueden perturbar la estructura del suelo, el

autor destaca algunos: las gotas de lluvia, la mecanización, la presencia de ciertos cationes como el sodio, las condiciones inadecuadas de humedad y el déficit de coloides en el suelo.

De acuerdo con Tisdall and Oades (1982), la estabilidad de agregados en muchos suelos depende de materiales orgánicos, los cuales clasifica en tres categorías con base en su tasa de descomposición: (a) agentes transitorios como polisacáridos, (b) agentes temporales como hifas y raíces y (c) agentes persistentes como compuestos aromáticos resistentes asociados con cationes metálicos polivalentes.

Para la caracterización de la estabilidad de agregados se han diseñado varios métodos, orientados principalmente a medir la resistencia de los agregados frente a la acción del agua, de ellos, el más confiable es el que utiliza simuladores de lluvia, aunque por las dificultades de manejo que tiene no ha sido estandarizado para trabajos de rutina. Para tener una medida aproximada de dicha resistencia se utilizan métodos de tamizado en húmedo de suelo como el de Tulin modificado por Yoder (Gómez, 1999), el cual se usara en este ensayo.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Localización

El ensayo se ubicó en un lote experimental de la Universidad Nacional de Colombia en la ciudad de Palmira, a 1000 m.s.n.m., 24°C de temperatura promedio, precipitación promedio anual de 800 a 1000 mm/año y humedad relativa del 70% (Gobernación del Valle del Cauca, 2008).

4.2 Diseño experimental

4.2.1 Condiciones iniciales

Para cumplir con los objetivos propuestos se requería que el ensayo se efectuara en un suelo que presentara deficiencias de K, para lo cual se recurrió a un suelo clasificado como Pachic Haplustolls ubicado en el Ingenio Providencia, el cual tenía un historial de 80 años sembrado en caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). En la Tabla 3 se incluyen algunas de las características químicas y físicas del suelo, antes de iniciar el experimento.

Tabla 3. Análisis químico y físico del suelo utilizado en el experimento.

Característica	Contenido
pH	6.23
MO (g/Kg)	47.84
P-Bray II (ppm)	197.35
K (cmol/Kg)	0.27
Ca (cmol/Kg)	17.34
Mg (cmol/Kg)	5.88
Na (cmol/Kg)	0.07
CIC (cmol/Kg)	24.25
S (ppm)	55.56
B (ppm)	1.41
Fe (ppm)	7.19
Mn (ppm)	47.85
Cu (ppm)	1.42
Zn (ppm)	3.55
Da (g/cm ³)	1.15
Textura	Franco limoso

Laboratorio de servicios analíticos del CIAT y laboratorio de física de suelos de la U. Nal. de Colombia, Palmira (Mayo de 2008).

Puede observarse que el pH de este suelo es ligeramente ácido, posee alto contenido de MO, muy alto en P, dado el manejo del suelo con fertilizantes de síntesis química, altos contenidos de S, Ca y Mg, medios para K y bajo en Na (ICA, 1992). En cuanto a los elementos menores, los contenidos de B y Mn son altos, donde los niveles de este último pueden ocasionar problemas de toxicidad, bajos para Zn, Fe y Cu (ICA, 1992). Con respecto a propiedades físicas, la densidad aparente es normal para la zona. Su textura franco limosa implica adecuada capacidad de retención de agua y nutrientes.

Para generar condiciones homogéneas, el suelo se tamizó usando una zaranda y posteriormente se dejó en baldes de 15 L durante 20 días con riego diario, con el fin de facilitar su consolidación¹. Luego de la consolidación del suelo se sembraron plantas de maíz blanco *Zea Mayz* SV1127 y se ubicaron en una construcción de guadua que asegurara circulación de aire y protección de la lluvia mediante techo plástico.

Se utilizó un diseño completamente al azar con medidas en el tiempo, empleando 5 tratamientos y 5 repeticiones, para un total de 25 unidades experimentales. Además se ubicaron plantas alrededor del ensayo para evitar efectos de borde (Figura 3).



Figura 3. Diseño en campo completamente al azar, con plantas de maíz blanco (*Zea Mayz* SV1127) como unidad experimental.

¹ Recomendación del doctor Edgar Amézquita, CORPOICA.

4.2.2 Descripción de los tratamientos

Los tratamientos consistieron en combinaciones de vinaza + cloruro de potasio (KCl), como fuentes de dicho nutriente para el cultivo de maíz blanco, además de la adición de nitrógeno (N) para complementar la fertilización, según las recomendaciones nutricionales para este cultivo, 250 Kg/Ha de KCl, 300 Kg/Ha de urea y 200 Kg/Ha de DAP (Tabla 4).

Los tratamientos se aplicaron en forma fraccionada, así: la primera fertilización al momento de la siembra, 60% del requerimiento de K y 2/3 del requerimiento de N. La segunda fertilización se hizo 30 días después, 40% del requerimiento de K y 1/3 del requerimiento de N. No se aplicó fósforo pues el contenido de este elemento en el suelo era muy alto, tal como se observó en la Tabla 3.

Tabla 4. Descripción de los tratamientos diseñados con vinaza (19% s.t.).

Tratamientos	Descripción	KCl (Kg/ha)	Urea (Kg/ha)	Vinaza (L/ha)
T0	Testigo absoluto (planta de maíz sin fertilización)	0	0	0
T1	0% vinaza + 100% KCl + N	250	300	0
V3	50% vinaza + 50% KCl + N	125	300	5233
V2	75% vinaza + 25% KCl + N	62.5	300	7850
V1	100% vinaza + N	0	300	10467

4.2.3 Caracterización de la vinaza

El análisis químico de la vinaza utilizada (Tabla 5) indica que ésta presenta condiciones muy ácidas, conductividad eléctrica moderada y alto contenido de MO. Sobresalen los contenidos de Ca, K, Fe y Mn.

Tabla 5. Análisis de vinaza de 19% s.t.

Característica	Contenido
pH	4.3
CE (ds/m)	7.82
MO (g/Kg)	96.1
N- Total (Kg/m ³)	3.9
P (Kg/m ³)	0.7
Ca (Kg/m ³)	4.8
Mg (Kg/m ³)	2.5
K (Kg/m ³)	12
Na (Kg/m ³)	0.5
S (Kg/m ³)	3.3
B (ppm)	8.64
Cu (ppm)	18.48
Fe (ppm)	3067
Mn (ppm)	85.22
Zn (ppm)	11.60

Laboratorio químico de campo, Ingenio Providencia (Junio de 2008).

4.3 Muestreos

A partir de 5 muestras de suelo tomadas al azar, se realizó una caracterización inicial con el fin de referenciar los valores de partida de la mayoría de las variables. La estimación de las variables se efectuó mediante dos muestreos en momentos claves de la fisiología del cultivo:

antes de floración (36 días después de la siembra, DDS) y durante la época de llenado de fruto (70 DDS).

4.4 Variables evaluadas y metodologías utilizadas

Las variables estimadas en cada muestreo fueron: longitud de ME (LME), ME vivo y activo (MEV), fracciones físicas de materia orgánica: liviana (LL), mediana (LM) y pesada (LH), glomalina fácilmente extractable (GFE), glomalina total (GT) y estabilidad de agregados (EA).

4.4.1 Longitud de micelio externo (LME)

Para la extracción y cuantificación del micelio externo se usó la técnica del filtro de membrana y el método de intercepto (gridline) de Miller and Jastrow (1992) y cálculos de Tennant (1975), descritos y adaptados por Torres (2000) y Zárate (2006).

Este proceso inicia con la dispersión de 5 g de suelo usando hexametáfosfato de sodio al 5%, posterior lavado con 500 ml de agua deionizada usando tamiz de 25 μ , dilución de la muestra para facilitar su observación al microscopio y finalmente recolección del micelio en un equipo de filtración al vacío que posee filtros de nitrocelulosa de 1.2 μ . Allí el micelio puede ser teñido con azul de tripano para facilitar la cuantificación de su longitud en términos de m/g de suelo (peso seco).

4.4.2 Micelio externo vivo y activo (MEV)

Se trata de una tinción vital basada en la estimación de la actividad de la succinato – deshidrogenasa (en términos e porcentaje), dentro del micelio de HMA, complejo enzimático que hace parte del ciclo de Krebs. Se realizó siguiendo la metodología de Hamel *et al.*, 1990,

posteriormente modificada de conformidad con el protocolo del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Santacruz de Tenerife, España (2007). Los detalles metodológicos se incluyen en el Anexo 1-A.

4.4.3 Fracciones de materia orgánica

Se utilizó la metodología de fraccionamiento físico de materia orgánica (MO) del suelo por tamaño-densidad (Meijboom *et al.*, 1995; Barrios *et al.*, 1996), la cual se encuentra ampliamente detallada en Correa (2004). Los fundamentos de esta técnica fueron explicados en el marco teórico

Inicialmente, el suelo seco al aire se satura con agua y se lava repetidamente sobre tamices superpuestos de 250 μm y 150 μm , para destruir los macroagregados y liberar la materia orgánica. Toda la materia orgánica liberada se recolecta en un mismo recipiente y se realiza la separación por densidad usando una suspensión de sílica gel estable (Ludox), para estimar las fracciones, liviana (LL), mediana (LM) y pesada (LH) de materia orgánica en unidades de g/Kg de suelo seco.

4.4.4 Glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT)

Se usó el método de Wright and Upadhyaya (1998), con modificaciones (Anexo 1-B). Este método se basa en extraer la glomalina del suelo en dos fracciones operacionalmente definidas (GFE y GT), adicionando citrato de sodio a una muestra de suelo y sometiéndola a 120°C en autoclave. Este proceso se realiza una sola vez para extraer GFE y varias veces para el caso de GT. Para la cuantificación de la glomalina se construye una curva patrón de de suero albúmina bovino (BSA), usando espectrofotómetro a 590 nm (Bradford, 1976).

4.4.5 Estabilidad de agregados (EA)

Su estimación se efectuó por el método de tamizado en húmedo o método de Tulin, modificado por Yoder y descrito en Montenegro y Malagón (1990). Con corrección de arenas usando hexametáfosfato de sodio.

En términos generales, el método consiste en someter una muestra de suelo sin disturbar, a agitación en agua por un determinado tiempo. La muestra se coloca en un juego de tamices de diferentes diámetros y al final del proceso se establece el porcentaje de agregados de los diferentes tamaños que quedan sin destruir en cada tamiz. Para la caracterización de esta variable se estimó el diámetro ponderado medio (DPM).

4.5 Análisis estadístico

Las variables de respuesta se analizaron con el paquete estadístico SAS versión 9.1 (año 2003). En los casos en los cuales se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos y/o entre épocas de muestreo (36 y 70 DDS), se realizaron pruebas de comparación de medias (Duncan). Para estimar las correlaciones entre las variables se calculó el coeficiente de Pearson con nivel de significancia $P \leq 0.05$.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Longitud de micelio externo (LME)

En la Figura 4 se observa el micelio externo (ME) de HMA una vez se extrae en los filtros de nitrocelulosa, teñido con azul de tripano y listo para cuantificar.

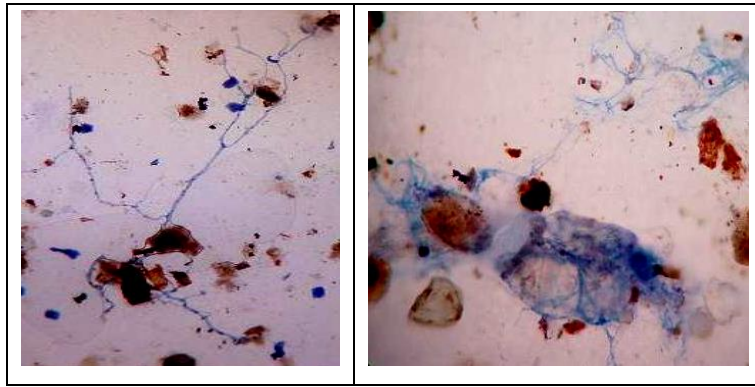


Figura 4. Extracción de micelio externo de HMA en filtros de nitrocelulosa - tinción con azul de tripano.

Foto: Diana Velásquez, 2008.

El análisis de varianza indicó que LME presentó diferencias altamente significativas por efecto de los tratamientos, a los 36 y 70 días después de siembra (DDS) (Figura 5, Anexo 2-A). Se observa que antes de floración (36 DDS) LME se incrementó en los tratamientos T1 y V1 con respecto al testigo y al valor inicial de referencia. A los 70 DDS el incremento fue generalizado, con excepción de T1 que disminuyó considerablemente, pasando de 9.8 m/g de suelo a 5.5 m/g de suelo.

Los valores para LME oscilaron entre 4.5 y 12.4 m/g de suelo, inferiores a los registrados en otras investigaciones, realizadas también bajo condiciones de invernadero, en plazos de tiempo cortos y con adiciones de algún tipo de fertilización. El rango registrado en dichos ensayos varía entre 17 y 20 m/g (Torres, 2000; Navia, 2006; Sánchez de P. *et al.*, 2007). Lo anterior puede explicarse por altos contenidos de fósforo en el suelo utilizado en este ensayo (197.35 ppm), pues como ya ha sido comprobado en otras investigaciones, existe una correlación negativa entre este nutriente y el desarrollo del micelio externo.

En esta investigación fue claro que la utilización de 100% KCl ocasionó efectos negativos sobre LME, mientras que las mezclas de KCl y vinaza favorecieron esta variable, cuya máximo valor se obtuvo con la aplicación de 100% vinaza.

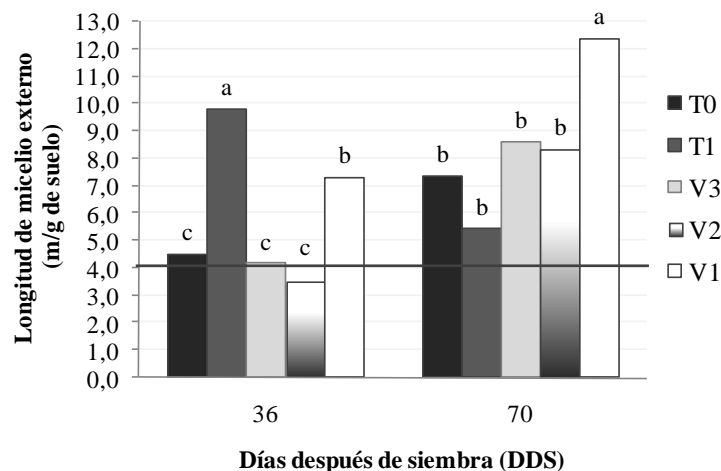


Figura 5. Efecto de tratamientos sobre la longitud de micelio externo de HMA asociado a plantas de maíz blanco (*Zea Mays*) SV1127 en cada época de muestreo. (T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada época, indican diferencia significativa – Duncan 5%. La línea horizontal indica el valor de referencia a los 0 DDS).

Distintos autores señalan que LME responde diferente a la fertilización orgánica e inorgánica (Sieverding, 1991; Miller *et al.*, 1995; Kabir *et al.*, 1998; Gryndler *et al.* 2006). Kabir *et al.*, 1998, encontraron que la fertilización con urea, nitrato de amonio o cloruro de potasio deprimieron ME mientras que el estiércol lo favoreció.

Tales resultados se explican en términos de disponibilidad de nutrientes y aumento generalizado en la actividad de microorganismos con la adición de compuestos orgánicos (Gryndler *et al.* 2006; Navia, 2006; Sánchez de P. *et al.*, 2007). De acuerdo con Buurman (2008), análisis de vinaza del Ingenio Providencia, muestran que en ella predominan compuestos orgánicos como polisacáridos y escasean compuestos recalcitrantes, lo que facilita su degradación microbiana y por tanto la liberación de nutrientes. Autores como Tejada *et al.*, 2007, Montenegro (2008) y Naranjo (2008)² han encontrado que la adición de vinazas al suelo aumenta la actividad microbiológica del mismo.

² Datos sin publicar, obtenidos en este mismo ensayo por Rubén Naranjo, 2008.

5.2 Micelio externo vivo y activo (MEV)

Cuando ME se tiñe con azul de tripano, las hifas toman un color azul (Figura 4). Por el contrario, cuando se aplica la tinción de la succinato deshidrogenasa (SDH), el micelio vivo y activo toma un color fucsia (Figura 6), en aquellos sitios donde el enzima actúa y participa en el ciclo de Krebs (Sylvia, 1988).

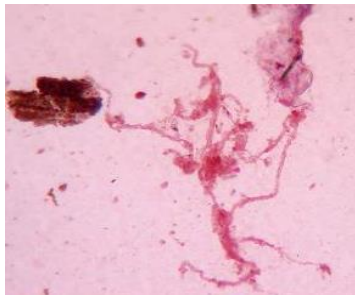


Figura 6. Extracción de ME vivo y activo de HMA en filtros de nitrocelulosa - tinción de succinato deshidrogenasa (SDH).

Foto: Diana Velásquez, 2008.

MEV se vio afectado en forma altamente significativa, en la época de llenado de fruto (70 DDS) (Figura 7, Anexo 2-B). Los cuatro tratamientos que incluían fertilización con KCl y/o vinaza fueron estadísticamente similares y sólo presentaron diferencias con T0.

Opuesto a lo presentado en LME, MEV no fue afectado por la fuente de fertilización. Sus valores promedio estuvieron entre 57% (36 DDS) y 63% (70 DDS), en los tratamientos sujetos a fertilización. T0 disminuyó a través del tiempo pasando de 58% a 43%. Estos valores indican que el micelio de HMA incrementó su participación en la absorción de nutrientes por efecto de fertilización.

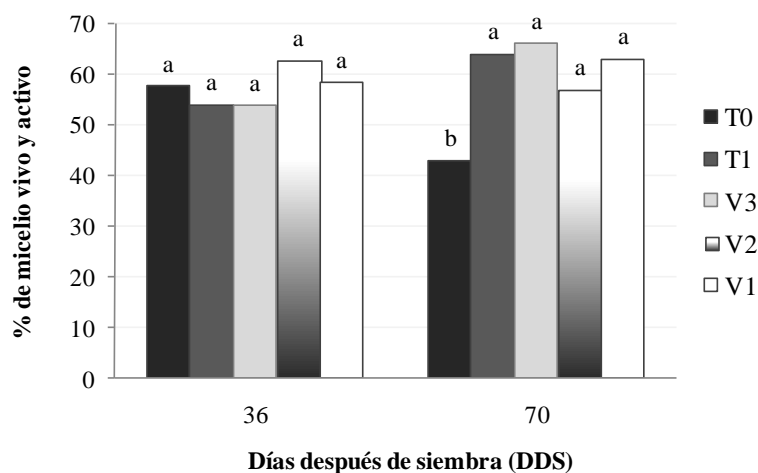


Figura 7. Efecto de tratamientos sobre el porcentaje de ME vivo y activo de HMA asociado a plantas de maíz blanco (*Zea Mayz*) SV1127 en cada época de muestreo. (T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada época de muestreo, indican diferencia significativa – Duncan 5%).

Según Sylvia (1988), los valores de MEV registrados en la literatura pueden estar en un rango amplio, entre 5 y 80%. En condiciones de invernadero Guillemín *et al.*, 1995 encontraron que plantas de soya *Glycine max* L., presentaron cambios a través del tiempo en el porcentaje de MEV con la adición de fertilización fosforada. Hacia la cuarta semana de crecimiento de las plantas el porcentaje de MEV fue de 20% y hacia la sexta semana fue de 47%. Kabir *et al.*, 1998, hallaron incrementos en MEV asociado a plantas de maíz, en un suelo arcilloso, obteniendo valores de 85% en época de floración y de 64% en época de cosecha.

El rango de variación de MEV puede relacionarse con factores como el cultivo, la textura del suelo, el tipo de fertilización, la fisiología de la planta hospedera, el sitio de muestreo y disponibilidad de nutrientes como el K. Sieverding (1991) indica que varios estudios muestran correlaciones positivas entre los HMA y dicho nutriente. El autor señala que en un suelo arcilloso, los niveles de colonización de raíces de yuca *Manihot esculenta* por HMA, mejoraron por efecto de fertilización con KCl, situación que se repitió bajo pasturas y leguminosas en un Oxisol de Colombia.

5.3 Glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT)

En la Figura 8 se muestra la curva estándar obtenida para la cuantificación de ambas fracciones de glomalina. El trabajo en laboratorio puso de manifiesto alta variabilidad de los datos, lo cual llevó a realizar distintas determinaciones con el uso de instrumentos de precisión, hasta obtener una curva con ajuste de 0.995.

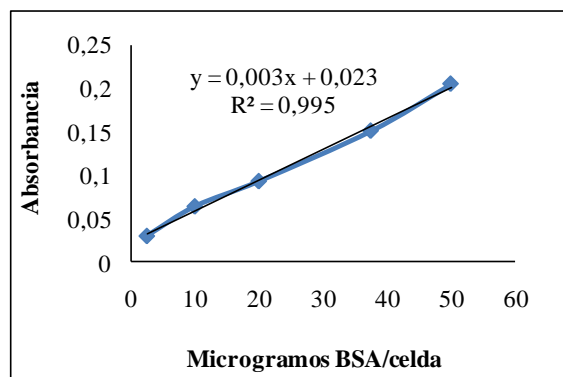


Figura 8. Curva estándar para la cuantificación de la glomalina.

5.3.1 Glomalina fácilmente extractable (GFE)

Los tratamientos no afectaron GFE en ninguna de las dos épocas de muestreo (Tabla 6, Anexo 2-C). Estos resultados concuerdan con Steinberg and Rillig (2003), quienes trabajaron bajo condiciones controladas durante 150 días y encontraron que los contenidos de GFE variaron poco a través de distintos muestreos, con valores que estuvieron alrededor de 2 mg/g de suelo.

Con respecto al valor de referencia de GFE (0.26 mg/g de suelo) se observa una leve disminución de la variable en el tiempo, tal vez explicable por el disturbio causado al suelo durante el proceso de homogenización inicial, lo cual podría favorecer la descomposición microbiana de diferentes moléculas.

Tabla 6. Contenido de glomalina fácilmente extractable (GFE) del suelo, para cada tratamiento en cada época de muestreo.

TTO	GFE (mg/g suelo)		
	0 DDS	36 DDS	70 DDS
T0	0.26	0.21 (a)	0.25 (a)
T1	0.26	0.20 (a)	0.24 (a)
V3	0.26	0.24 (a)	0.21 (a)
V2	0.26	0.21 (a)	0.22 (a)
V1	0.26	0.24 (a)	0.22 (a)

(T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. 0 DDS indica el valor inicial de referencia).

5.3.2 Glomalina total (GT)

Contrario a GFE, GT presentó diferencias significativas por efecto de los tratamientos a los 70 DDS, (Figura 9, Anexo 2-D). A los 36 DDS los valores de GT estuvieron entre 1.2 y 1.5 mg/g de suelo, inferiores al valor inicial de referencia (1.8 mg/g), tendencia que se mantiene en el ensayo. A los 70 DDS la aplicación de 100% KCl generó un efecto negativo sobre esta variable, con relación a los demás tratamientos, incluyendo a T0.

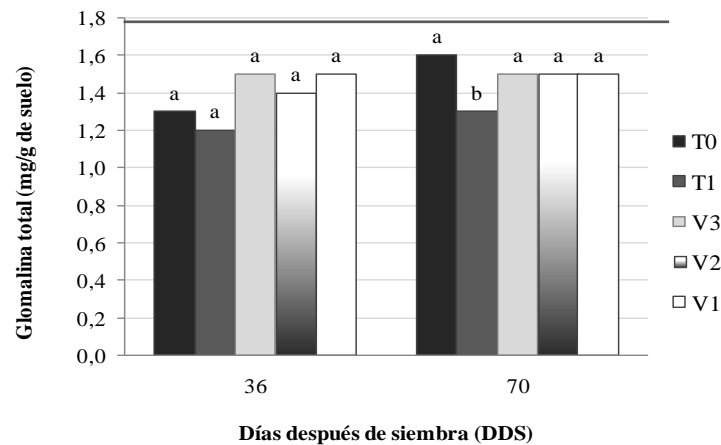


Figura 9. Efecto de tratamientos sobre el contenido de glomalina total del suelo en cada época de muestreo.

(T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada época, indican diferencia significativa – Duncan 5%. La línea horizontal indica el valor de referencia a los 0 DDS).

La revisión de literatura acerca de valores de GT y GFE (Tabla 7), muestra que los resultados de este ensayo están por debajo de los promedios registrados. Diferentes autores señalan que ambas fracciones de glomalina están influenciadas por el manejo del suelo, principalmente prácticas de labranza y quemas. Es de anotar que el suelo utilizado en este ensayo tiene un historial de 80 años bajo cultivo de caña de azúcar con prácticas de labranza mecanizada y quemas, posible explicación para los valores bajos.

Tabla 7. Contenidos de glomalina fácilmente extractable y total (GT) en suelo, obtenidos en otras investigaciones.

GFE	GT	Observaciones	Referencia
No estimada	4.4 – 14.4 mg/g	Suelos ácidos no disturbados de diferentes localidades. (Rango de oscilación).	Wright and Upadhyaya (1996)
2 mg/g	5 – 7 mg/g	Suelo forestal. GT declinó un 25% en 150 días. GFE no cambio en el tiempo.	Steinberg and Rillig (2003)
0.9; 2.1 g/cm ³	3.0; 4.6 mg/cm ³	Suelo forestal fértil; Suelo forestal infértil. (Valores promedio).	Lovelock <i>et al.</i> , 2004
3.4 – 3.9 mg/g	8.7 – 10 mg/g	Agroecosistema con rotación avena, trigo y lupino. (Rango de oscilación).	Morales <i>et al.</i> , 2005
No estimada	5.7; 7.2 mg/g	Labranza convencional + quema de residuos; Sin labranza.	Borie <i>et al.</i> , 2006

Con respecto a efectos de fertilización sobre GT y GFE son escasos los registros. Lovelock *et al.*, 2004, encontraron menor GT con mayores concentraciones de Ca, P, K y Mn en el suelo. En este ensayo, el uso de KCl (100%) afectó negativamente LME y nuevamente este detrimento se observó en GT, lo cual aparentemente establece una relación entre estas dos variables de HMA.

La disminución de GT a través del tiempo con respecto al nivel inicial de referencia de 1.8mg/g de suelo es difícil de explicar con base en descomposición de dicha glicoproteína, ya que estudios realizados por Steinberg and Rillig (2003), indican bajas tasas de descomposición

para GT, menores de 25% en un periodo de 150 días. Todo parece indicar imprecisiones metodológicas en el primer muestreo.

5.4 Fraccionamiento físico de materia orgánica (MO)

Las fracciones liviana (LL), mediana (LM) y pesada (LH) de MO procedentes del suelo estudiado y obtenidas mediante separación física, una vez finalizado el proceso de fraccionamiento con Ludox, se observan en la Figura 10.

LL constituye la fracción mayoritaria en la cual aún se distinguen: abundante cantidad de raíces muy finas y algunos restos de material calcinado, de quemas realizadas con anterioridad en el sitio donde se obtuvo el suelo. Por el contrario en LM y LH no se reconoce la estructura de la MO que le dio origen y en la medida que se pasa de LM a LH disminuye considerablemente el tamaño y la cantidad de la fracción.

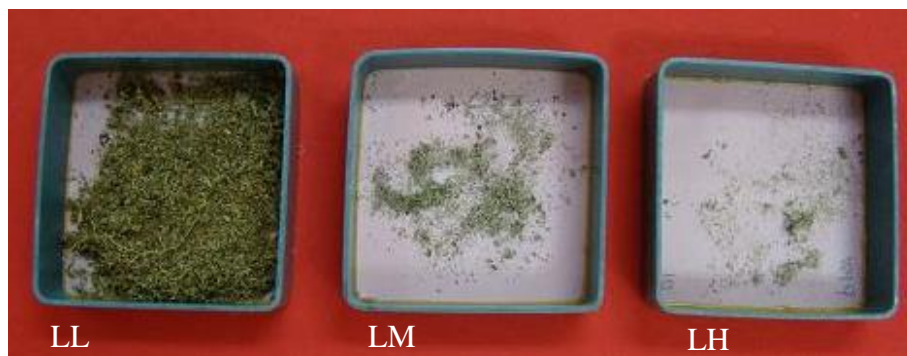


Figura 10. Fracciones de materia orgánica aisladas del cultivo de maíz blanco (*Zea Mayz*) SV1127, a los 70 después de su siembra.

Foto: Neuzza Azakawa y Gersón Ramírez, 2008. Laboratorio de Biología del Suelo, CIAT.

5.4.1 Fracción liviana (LL)

De las tres fracciones de MO, LL fue la única que mostró cambios altamente significativos por efecto de tratamientos en las dos épocas de muestreo. Los valores obtenidos en LL se incrementaron en todos los tratamientos con respecto al valor inicial de referencia (2.5 g/Kg de suelo). A los 36 DDS, los mayores incrementos en LL, se observaron en T1, V2 y V1 y a los 70 DDS se presentaron en T1, V3 y V2 (Figura 11, Anexo 2-E).

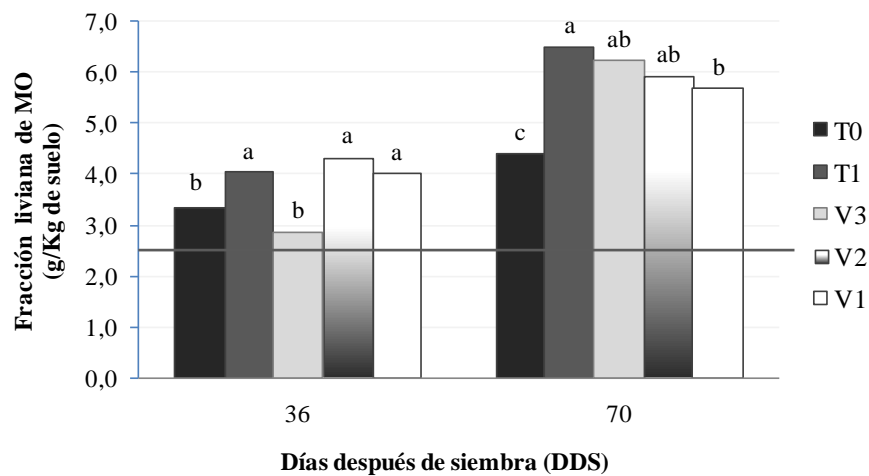


Figura 11. Efecto de tratamientos sobre la fracción liviana de MO del suelo en cada época de muestreo.

(T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada época, indican diferencia significativa – Duncan 5%. La línea horizontal indica el valor de referencia a los 0 DDS).

Los resultados de este ensayo difieren de registros obtenidos por Correa (2004), quien no encontró cambios en LL ante prácticas de manejo como la rotación de monocultivos y sistemas agropastoriles. La mayoría de estudios señalan a LL como variable sensible a prácticas de manejo (Elliott and Cambardella, 1991; Barrios *et al.*, 1996; Christensen, 2001), como por ejemplo a la adición de residuos de poda en cultivos de maíz (*Zea mays*) (Barrios *et al.*, 1996) ó a estrategias de fertilización con estiércol en cultivos en rotación de maíz (*Zea mays*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) (Kapkiyai *et al.*, 1998).

La sensibilidad de LL, se debe a que esta fracción esta conformada por MO no complejada con los minerales del suelo (Pansu and Gautheyrou, 2006), que la convierte en fuente de energía y nutrientes para los microorganismos, en la mayoría de los casos (Christensen, 2001; Gregorich *et al.*, 2006), cuya actividad coincide con disponibilidad de nutrientes para la planta.

Con respecto al valor inicial de referencia, se resalta que LL se incremento considerablemente a través del tiempo, lo cual se asocia básicamente con producción de raíces y a la vez indica tasas de producción de esta fracción que son superiores a su descomposición, a pesar del aumento en la actividad microbiana mencionada con anterioridad.

5.4.2 Fracción mediana (LM)

De acuerdo con el análisis de varianza, esta fracción de materia orgánica no varió entre tratamientos en las épocas de muestreo (Anexo 2-F). Mientras las unidades en LL son del orden de g/Kg de suelo, en LM pasan a décimas de esta unidad (Tabla 8). También puede observarse una ligera disminución en LM a los 36 y 70 DDS con respecto al valor hallado antes de la aplicación de los tratamientos, lo cual puede indicar accesibilidad de microorganismos a esta fracción.

Tabla 8. Contenido de la fracción mediana de materia orgánica (LM) en el suelo para cada época de muestreo.

Tratamiento	LM (g/Kg de suelo)		
	0 DDS	36 DDS	70 DDS
T0	0.3	0.2 (a)	0.2 (a)
T1	0.3	0.2 (a)	0.2 (a)
V3	0.3	0.1 (a)	0.2 (a)
V2	0.3	0.1 (a)	0.2 (a)
V1	0.3	0.2 (a)	0.3 (a)

(T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente).

5.4.3 Fracción pesada (LH)

En la segunda época de muestreo hubo diferencias significativas entre tratamientos (Figura 12, Anexo 2-G). Con la adición de 100% vinaza (V1) se encontró el mayor valor de la variable. La mayoría de valores de LH fueron inferiores al valor inicial de referencia (0.3g/Kg de suelo).

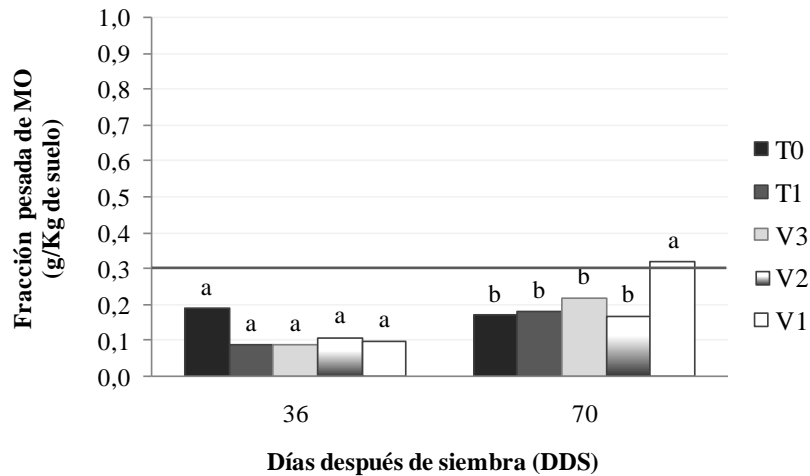


Figura 12. Efecto de tratamientos sobre la fracción pesada de MO del suelo en cada época de muestreo.

(T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada época, indican diferencia significativa – Duncan 5%. La línea horizontal indica el valor de referencia a los 0 DDS).

En otras investigaciones no se han encontrado cambios en LH (Correa, 2004; Barrios *et al.*, 1996), en vista de su calidad de material humificado, es decir, con apariencia amorfa, compleja en su composición bioquímica hasta tornarse irreconocible y con alto grado de estabilidad (Labrador, 2001; Essington, 2004).

Desde esta perspectiva, el aumento de LH presentado en V1 (100% vinaza), comparado con los demás tratamientos, puede corresponder a MO humificada ya contenida en el suelo antes de la siembra de las plantas de maíz. Cabe recordar el alto contenido de materia orgánica del suelo, mostrado en la Tabla 3 (4.7%).

En cuanto a la disminución generalizada en el contenido de LH durante el tiempo del ensayo, 0.3 g/Kg de suelo a los 0 DDS, 0.1 g/Kg de suelo a los 36 DDS y 0.2 g/Kg de suelo a los 70 DDS, es posible que esto se relacione con la metodología de trabajo y/o condiciones que favorecieron la degradación microbiana de esta fracción de MO, como por ejemplo, el disturbio causado por la homogenización del suelo antes de iniciar este ensayo.

Finalmente es de resaltar que los contenidos de las fracciones de MO siguen la tendencia LL>LM>LH, coincidente con registros de Basamba *et al.*, 2007, y favorable para el desarrollo de las plantas debido a que LL constituye fuente de nutrientes rápidamente disponibles, por ejemplo, NH_4^+ , NO_3^- , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , SO_4^{2-} , entre otros (Christensen, 2001; Gregorich *et al.*, 2006). LM y LH actúan como reservorios de dichos nutrientes, los cuales pueden ser liberados a la solución del suelo a través del metabolismo microbiano, con un esfuerzo mayor (Elliott and Cambardella, 1991; Essington, 2004).

5.5 Estabilidad de agregados del suelo (EA)

5.5.1 Distribución de agregados

Las tendencias para las dos épocas de muestreo, mostraron que en todos los tratamientos, predominaron agregados de tamaño <0.25 mm, situación coherente con el proceso de homogenización del suelo al inicio del ensayo. Este porcentaje se redujo a través del tiempo con la adición de KCl y/o vinaza.

Es de destacar que los cambios en los agregados fueron evidentes en los tamaños extremos: >2mm y <0.25mm, correspondientes a macroagregados y microagregados, respectivamente (Tisdall and Oades, 1982).

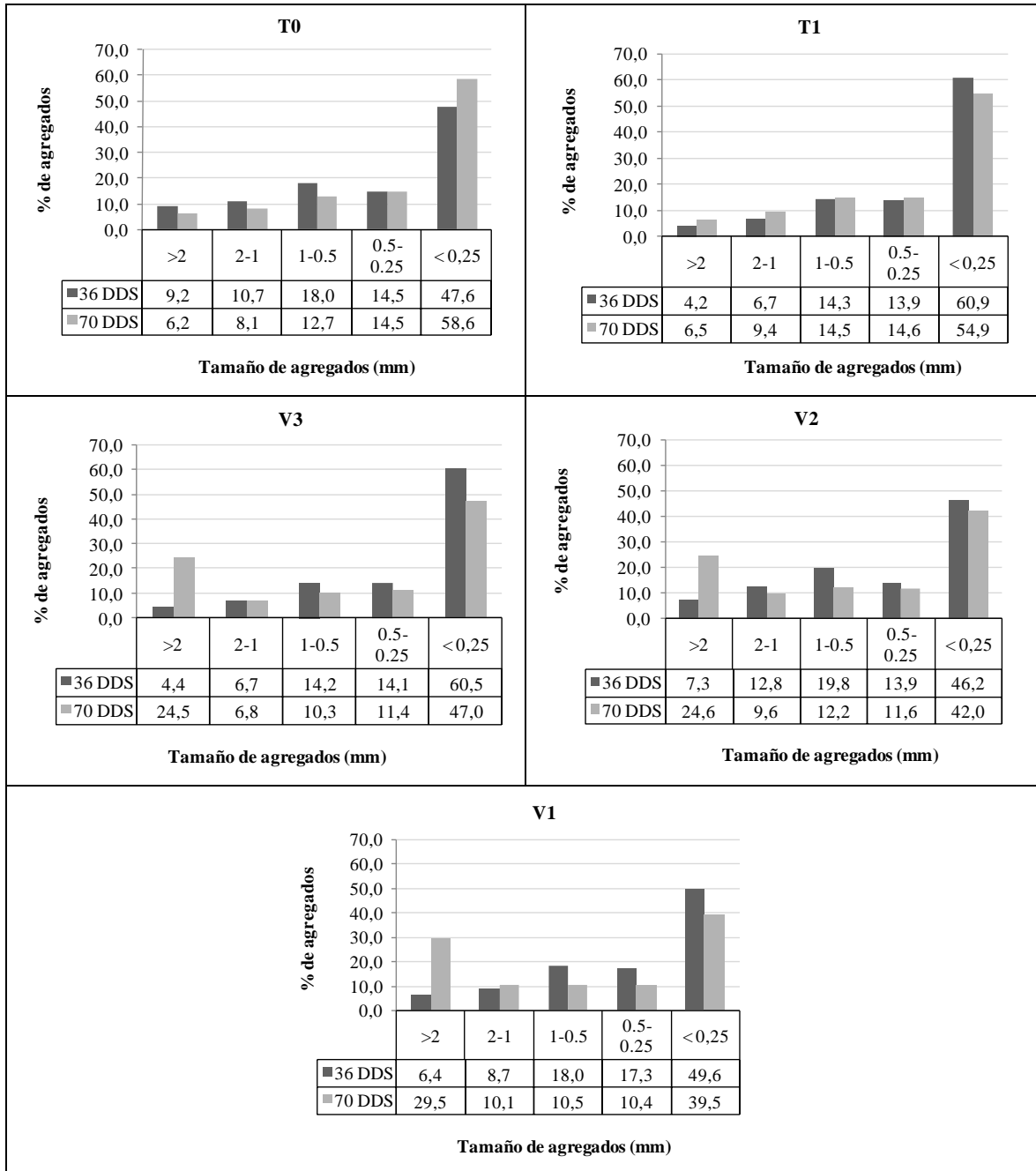


Figura 13. Distribución de agregados para cada tratamiento en cada época de muestreo. (T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente).

Con base en lo anterior se realizó un análisis de varianza para valorar el efecto de los tratamientos sobre los tamaños de agregados >2 mm y <0.25 mm. Los resultados indican que

hacia los 70 DDS se presentaron efectos altamente significativos de los tratamientos sobre estos dos tamaños (Figura 14, Anexos 2-H y 2-I).

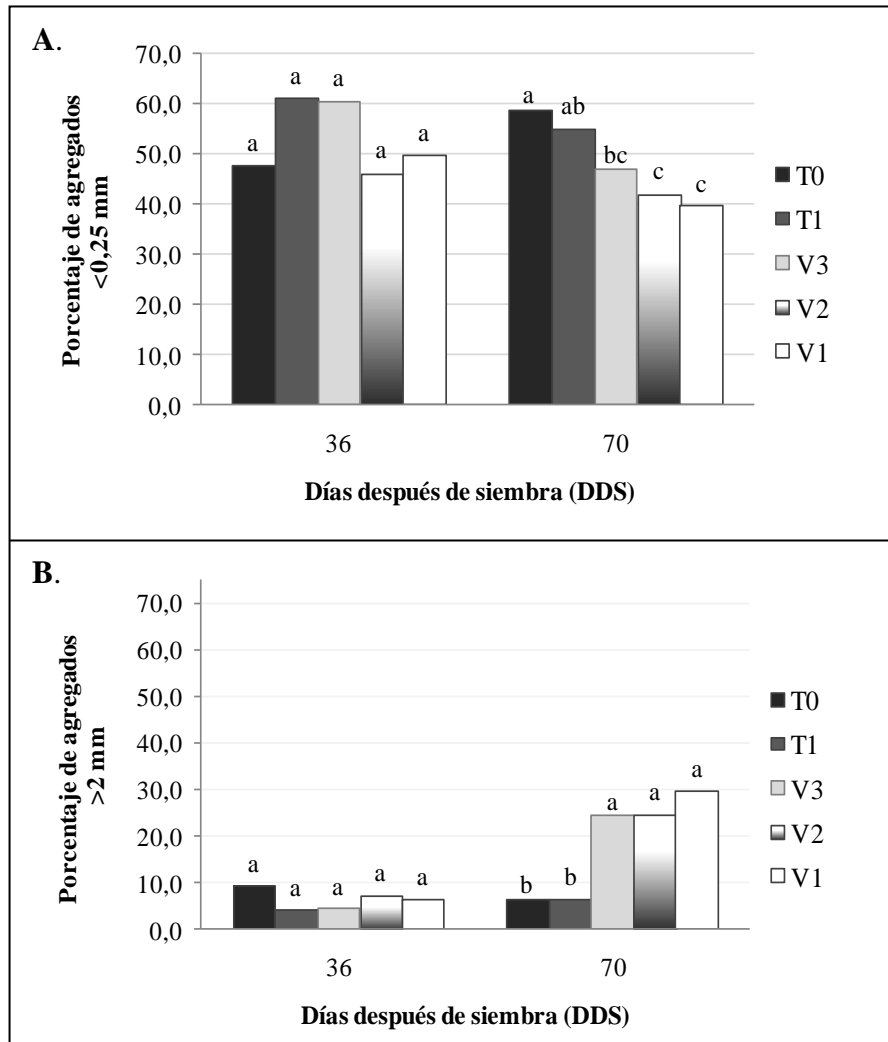


Figura 14. Efecto de tratamientos sobre (A) microagregados de tamaño <0.25 mm y sobre (B) macroagregados de tamaño >2 mm, en cada época de muestreo.

(T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes dentro de cada época, indican diferencia significativa – Duncan 5%).

A los 36 DDS no hubo cambios para ninguno de los dos tamaños, mientras que a los 70 DDS es evidente el efecto de las fuentes orgánicas en la disminución de agregados <0.25 mm e incremento de macroagregados >2 mm.

Los resultados anteriores evidencian procesos de agregación del suelo favorecidos por la aplicación de vinaza, probablemente debido a la elevada concentración de electrolitos contenidos en este subproducto, los cuales tienen efecto floculante reconocido (García y Rojas, 2006). Dicha floculación, conduce a la unión entre las partículas sólidas del suelo mediante cationes polivalentes como Ca^{2+} . Sin embargo se requiere de materiales cementantes (compuestos orgánicos) que aseguren la permanencia de tales uniones (Fernández *et al.* 2001; Jaramillo, 2002; Barrera, 2003).

Así, componentes orgánicos, óxidos de hierro (Fe) y cationes como el Ca^{2+} , presentes en la vinaza de este ensayo (Tabla 3), pueden ser los responsables directos de la agregación del suelo.

5.5.2 Diámetro ponderado medio (DPM)

A los 70 DDS, los tratamientos tuvieron un efecto altamente significativo (Figura 15, Anexo 2-J), acordes con los incrementos en el tamaño de agregados. Los valores más altos para DPM se obtuvieron con la aplicación de 100% vinaza (1 mm), calificado como suelo ligeramente estable de acuerdo con clasificación propuesta en Montenegro y Malagón, 1990 (Anexo 3).

Resultados diferentes a los de este ensayo fueron encontrados por Montenegro (2008), quien trabajó bajo condiciones de invernadero en un Molisol sembrado con maíz dulce (79DDS). La autora no halló diferencias en DPM con aplicaciones de 100% KCl y 100% vinaza a través de las evaluaciones en el tiempo.

Los efectos de la vinaza sobre la agregación del suelo, evidenciados en esta investigación, también difieren de registros de Tejada and Gonzalez (2006), quienes encontraron que EA disminuyó con aplicación anual de vinaza fresca durante cuatro años y argumentan que posiblemente se debió a altos niveles de Na^+ . La diferencia entre los dos experimentos está en

los contenidos de Na^+ ; las cantidades de vinaza aplicadas y el tiempo de duración de los ensayos. Por ejemplo, en la vinaza utilizada en este ensayo el contenido de Na^+ era bajo (Tabla 3). Tejada and Gonzalez (2006), usaron dosis por tratamiento de 10680, 5340 y 1780 kg/ha/año (expresadas como contenido de materia orgánica), mientras que en este ensayo la cantidad total de vinaza aplicada por tratamiento fue de 1005, 754 y 503 kg/ha (expresadas en la misma unidad).

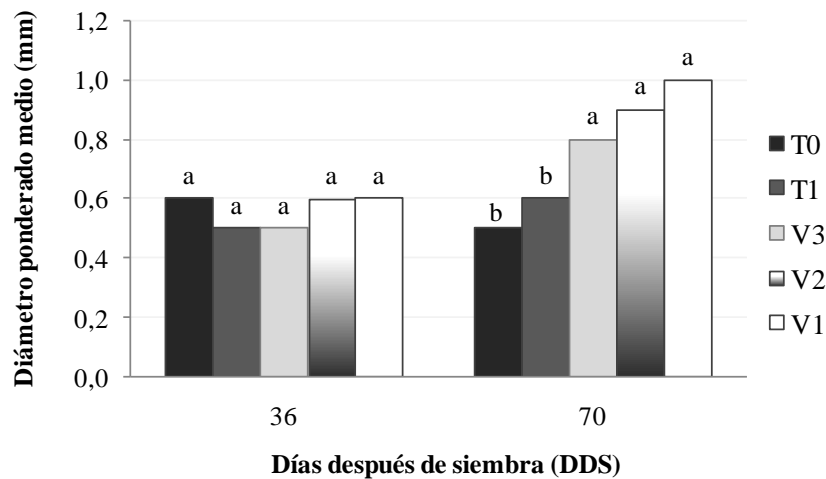


Figura 15. Efecto de tratamientos sobre el diámetro ponderado medio en cada época de muestreo.

(T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes indican diferencia significativa – Duncan 5%).

5.6 Correlación entre las diferentes variables

En la Tabla 9 se observa que LL, LM y LH se correlacionaron positivamente con MEV, lo cual es de esperar dada la liberación de nutrientes durante la descomposición de la materia orgánica y el puente que tiende MEV para la absorción de ellos por las plantas.

LME correlacionó con DPM y con porcentaje de microagregados (<0.25mm) y de macroagregados (>2mm), condición señalada por Tisdall and Oades (1982) y Douds and Collins (2007), quienes referencian LME como factor temporal (semanas o meses) de

agregación del suelo. Basan sus afirmaciones en el “enmarañamiento físico” que forma el micelio de los HMA y que une partículas del suelo (Figura 16). A pesar de que las hifas individuales no son fuertes, cuando conforman marañas o redes, la situación cambia.

Tabla 9. Correlaciones entre las diferentes variables (Pearson $P < 0.05$).

	LM	LH	LME	MEV	GFE	GT	DPM	> 2mm	< 0.25 mm
LL	0.31542 0.2340	0.23845 0.3738	-0.21256 0.3823	0.62139 0.0045	-0.3959 0.1038	-0.3456 0.1898	0.02187 0.9292	-0.0241 0.9220	-0.1131 0.6447
LM	1,0000	0.93755 <.0001	0.09534 0.7159	0.51920 0.0327	0.0270 0.9208	0.3179 0.2681	0.17859 0.4928	0.1098 0.6747	-0.1967 0.4493
LH		1,0000	0.14597 0.5761	0.55562 0.0206	-0.0612 0.8219	0.0823 0.7798	0.28320 0.2707	0.2209 0.3941	-0.2761 0.2835
LME			1,0000	-0.13015 0.5352	-0.1378 0.5306	0.2752 0.2273	0.51697 0.0097	0.4839 0.0166	-0.4901 0.0150
MEV				1,0000	-0.1967 0.3684	-0.3017 0.1838	0.18655 0.3828	0.1754 0.4123	-0.1576 0.4620
GFE					1,0000	0.2968 0.1914	-0.21765 0.3185	-0.2394 0.2712	0.1331 0.5449
GT						1,0000	-0.00258 0.9911	-0.0132 0.9548	-0.0726 0.7545
DPM							1,0000	0.9792 <.0001	-0.9160 <.0001
> 2mm								1,0000	-0.8399 <.0001

Aunque varios estudios señalan correlaciones entre EA y glomalina, en este estudio no fueron significativas. Sin embargo existen otras características de esta glicoproteína de importancia

para el agroecosistema, como su contribución a los compartimientos de almacenamiento de C y N del suelo (Rillig *et al.*, 2001) que deben ser consideradas.

Con respecto a las variables de agregación del suelo, el DPM estuvo altamente influenciado y en forma positiva, por la formación de macroagregados $>2\text{mm}$, y en forma negativa, por la formación de microagregados $<0.25\text{ mm}$. Es de esperarse que en la medida que se incrementan los agregados mayores, lo hagan a costa de los menores.

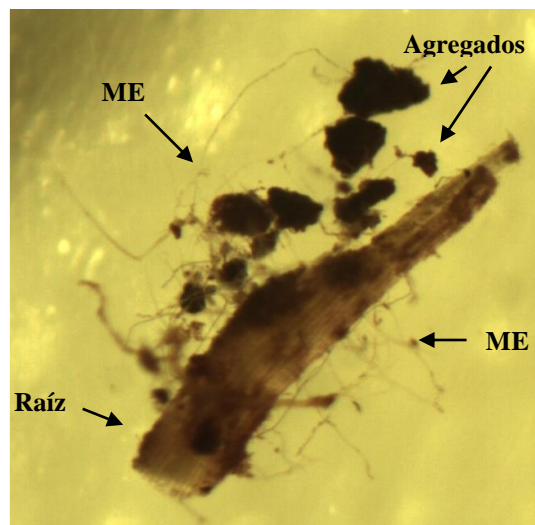


Figura 16. Participación del micelio externo (ME) de los HMA en la formación de agregados en el suelo. (Raíz de plantas de maíz blanco – *Zea Mayz* –SV1127.
Foto: Julio Jaramillo y Diana Velásquez. 2008

6. Consideraciones finales

Los resultados encontrados en este Molisol sembrado con maíz blanco, bajo condiciones de invernadero, muestran que variables físicas, químicas y biológicas del suelo pueden verse afectadas en un corto plazo por las fuentes de K utilizadas. A escala que sobrepasa este ensayo, lo anterior puede interpretarse como alerta de cambios, no solamente en dichas

variables, si no en otras ligadas a los procesos productivos sostenibles, en los cuales diferentes fuentes de nutrientes se aplican como prácticas cotidianas.

Aunque este ensayo proporciona referentes de trabajo, también se generan inquietudes que sólo podrán ser resueltas a través de la investigación que combine condiciones controladas y condiciones de campo, en un proceso a mediano y largo plazo con consideración de factores como el cultivo, periodicidad de las aplicaciones de vinaza, caracterización física, química y biológica de este insumo y condiciones ambientales presentes, entre otros.

7. CONCLUSIONES

- En este ensayo realizado bajo condiciones de invernadero en un Molisol del Valle del Cauca, las diferentes fuentes de K (vinaza y KCl) aplicadas en maíz blanco SV1127 y evaluadas durante 70 días, presentaron efectos significativos sobre las variables individuales de HMA (longitud y actividad de micelio externo y glomalina total), sobre fracciones liviana y pesada de materia orgánica y sobre estabilidad de agregados del suelo.
- La expresión de las variables longitud del micelio externo de HMA, glomalina total, fracción liviana de MO y estabilidad de agregados se favoreció por la aplicación de vinaza en sus diferentes dosis.
- Las correlaciones altamente significativas entre las fracciones de MO y el micelio vivo y entre la longitud del micelio externo de HMA y agregación corroboran la estrecha relación entre propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos.

BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Fattah, G. M. 2001. Measurement of the viability of arbuscular-mycorrhizal fungi using three different stains; relation to growth and metabolic activities of soybean plants. *Microbiol. Res.* 156: 359–367.
- Abiven, S., Menasseri, S., Angers, D. A. and Leterme, P. 2007. Dynamics of aggregate stability and biological binding agents during decomposition of organic materials. *European Journal of Soil Science* 58 (february): 239–247.
- Asocaña. 2005. Programa de biogasolina. En línea, [http://www.minminas.gov.co/minminas/sectores.nsf/2a84e89f4d73f130052567be0052c75a/8d566806de23cd580525705f00432e6d/\\$FILE/_g89kmupr1ednmoqbec5fk2srfcdgq8o8_.pdf](http://www.minminas.gov.co/minminas/sectores.nsf/2a84e89f4d73f130052567be0052c75a/8d566806de23cd580525705f00432e6d/$FILE/_g89kmupr1ednmoqbec5fk2srfcdgq8o8_.pdf). (Consultada en julio de 2007).
- Barrera, L. 2003. El papel de la materia orgánica en el manejo integral de la fertilidad del suelo: p. 123-134. En: M. Triana, R. Lara, M. I. Gómez y G. Peñaloza (eds.). *Manejo integral de la fertilidad del suelo*. Bogotá D.C., Colombia.
- Barrios, E., Buresh, R. J. and Spret, J. I. 1996. Organic matter in soil particle size and density fractions from maize and legume cropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 28 (2): 185–193.
- Basamba, T. A., Barrios, E. Singh B. R. and Rao, I. M. 2007. Impact of planted fallows and a crop rotation on nitrogen mineralization and phosphorus and organic matter fractions on a Colombian volcanic-ash soil. *Nutr Cycl Agroecosyst* 77: 127–141.
- Beare, M. H., Hu, S., Coleman D. C. and Hendrix, P. F. 1997. Influences of mycelial fungi on soil aggregation and organic matter storage in conventional and no-tillage soils. *Applied Soil Ecology* 5 (june): 211-219.
- Berón, G. M. 2006. Usos alternativos de las vinazas de acuerdo con su composición química. *Tecnicaña* 10, N° 17 (marzo): 15-19.
- Borie, F., Rubio, R., Rouanet, J. L., Morales, A., Borie, G., Rojas, C. 2006. Effects of tillage systems on soil characteristics, glomalin and mycorrhizal propagules in a Chilean Ultisol. *Soil & Tillage Research* 88: 253–261.

- Brown, S., Anderson, J. M., Woomer, P. L., Swift, M. J. y Barios, E. 1994. Soil biological processes in tropical ecosystem. En: Woomer, P. L and Swift M. S. (eds). *The Biological Management of Tropical Soil Fertility*. TSBF.
- Brundrett, M. C. 2008. Mycorrhizal Associations: The Web Resource. En línea: <http://mycorrhizas.info/vam.html>. (Consultada en Noviembre de 2008).
- Buurman, P. 2008. Curso: La materia orgánica, su estudio y evaluación. Abril 14 al 18. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.
- Capra, F. 2003. *La trama de la vida: una nueva perspectiva de los sistemas vivos*. 359 p.
- Castillo, C., Rubio, R. y Borie, F. Manual de protocolos de hongos micorrícicos arbusculares. INVAM (2009). En línea, <http://invam.caf.wvu.edu/methods/mycorrhizae/glomalin.htm>.
- Christensen, B. T. 2001. Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *European Journal of Soil Science* 52: 345–353.
- Correa, D. L. 2004. Valoración biológica de capa arable en formación en suelos de la altillanura Colombiana. Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 75 p.
- Douds, D. and Collins, N. 2007. Contributions of arbuscular mycorrhizas to soil biological fertility. p.p. 129–162. En: L. K. Abbott y D. V. Murphy (eds). *Soil Biological Fertility: A Key to Sustainable Land Use in Agriculture*. Dordrecht, The Netherlands.
- Driver, J. D., Holben, W. E. and Rillig, M. C. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 101–106.
- Elliott, E. T. and Cambardella, C. A. 1991. Physical separation of soil organic matter. *Agriculture Ecosystem and environment* 34: 407-419.
- Essington, M. E. 2004. *Soil and water chemistry: an integrative approach*. Florida. 534 p.
- Fernández, M., Aguilar, M., Carrique, J., Tortosa, D., García, C., López, M. y Pérez, J. 2001. *Suelo y medio ambiente en invernaderos*. Consejería de Agricultura y Pesca. Andalucía. 135 p.
- Ferrol, N., Barea, J. M. & Azcón-Aguilar, C. 2002. Mechanisms of nutrient transport across interfaces in arbuscular Mycorrhizas. *Plant and Soil* 244: 231–237.

- García, A. y Rojas, A. 2006. Posibilidades de uso de la vinaza en la agricultura de acuerdo con su modo de acción en los suelos. *Tecnicaña* 10, N° 17 (marzo): 3-13.
- Gnecco, J. G. 2004. Procesos de producción de vinaza en alcohol carburante. En: Encuentro sobre vinazas, potasio y elementos menores para una agricultura sostenible. Mayo 13 y 14. Palmira, Valle del Cauca. CD- Memorias.
- Gobernación del Valle del Cauca. En línea, <http://www.valledelcauca.gov.co/publicaciones.php?id=41>. (Consultada en septiembre de 2008).
- Gómez, E. 1999. Procesos erosivos: estrategias para su caracterización e implementación de sus prácticas básicas de control y prevención. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. Instituto de Ciencias Naturales y Ecología (ICNE). 154 p.
- Gryndler, M., Larsen, J., Hršelová, H., Řezáčová, V., Gryndlerová, H. and Kubát, J. 2006. Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment. *Mycorrhiza* 16: 159–166.
- Guillemin, J. P., Orozco, M. O., Gianinazzi-Pearson, V. and Gianinazzi, S. 1995. Influence of phosphate fertilization on fungal alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase activities in arbuscular mycorrhiza of soybean and pineapple. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 53: 63-69.
- Higuera, C. O. F., Tristancho, R. J. L. y Florez, G. L. C. 2007. Biocombustibles y su aplicación en Colombia. *Scientia et técnica*, año xiii, N° 34 (mayo). Universidad tecnológica de Pereira. En línea, <http://www.utp.edu.co/php/revistas/ScientiaEtTechnica/docsFTP/83310171-175.pdf> (Consultada en agosto 5 de 2007).
- ICA. 1992. Fertilización en diversos cultivos, quinta aproximación. Manual de asistencia técnica N° 25. Centro de investigación. Colombia. 64 p.
- IPCC. 2007. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*. En línea, http://ipcc-wg1.ucar.edu/wg1/docs/WG1AR4_SPM_PlenaryApproved.pdf. (Consultada en Noviembre de 2008).

- Jaramillo, D. F. 2002. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. Versión en CD. 613 p.
- Johnson, N. C. and Gehring, C. A. 2007. Mycorrhizas: symbiotic mediators of rhizosphere and ecosystem processes. p.p. 73 – 100. En: Z. Cardon, J. Whitbeck and J. Whitbeck (eds). The Rhizosphere: An Ecological Perspective.
- Kabir Z., O'Halloran, I. P., Fyles, J. W., Hamel, C. 1998. Dynamics of the mycorrhizal symbiosis of corn (*Zea mays* L.): effects of host physiology, tillage practice and fertilization on spatial distribution of extra-radical mycorrhizal hyphae in the field. *Agric. Ecosyst. Environ* 68: 151–163.
- Kapkiyai, J. J., Karanja, N. K., Woomer, P and Qureshi, J. N. 1998. Soil organic carbon fractions in a long-term experiment and the potential for their use as a diagnostic assay in highland farming systems of central Kenya. *African Crop Science Journal* 6 (1). En línea, <http://www.bioline.org.br/request?cs98003>. (Consultada en agosto de 2008).
- Korndörfer, G. H., Nolla, A., Waldo, A. R. y Cabezas, L. 2004. Impacto ambiental del uso de la vinaza en la agricultura y su influencia en las características químicas y físicas del suelo. En: Encuentro sobre vinazas, potasio y elementos menores para una agricultura sostenible. Mayo 13 y 14. Palmira, Valle del Cauca. CD- Memorias.
- Labrador, J. M. 2001. La materia orgánica en los agrosistemas. España. 293 p.
- Lotero, M. L. O. 2006. Efecto de la aplicación de vinaza y bovinaza sobre algunas propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo en el establecimiento y producción inicial de forraje de Maralfalfa (*Pennisetum sp*) en suelos del Municipio de Popayán Cuaca. Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 104 p.
- Lovelock, C. E., Wright, S. F., Clark, D. A. and Ruess, R. W. 2004. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology* 92: 278-287.
- Madejón, E., López, R., Murillo, J. y Cabrera, F. 2001. Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 84: 55-65.

- Madigan, M. T., Martinko, J. M. y Parker, J. 2004. *Brok, biología de los microorganismos*. Décima edición. Madrid.
- Mancheno, J. G. 2006. Situación de la producción de etanol en Colombia. En línea, http://clayuca.org/training/pdf/060315_escenarios_de_produccion_de_etanol_en_colombia.pdf. (Consultada en julio de 2007).
- Meijboom, F. W., Hassink, J. and Noordwijk, M. 1995. Density fractionation of soil macroorganic matter using silica suspensions. *Soil Biol. Biochem* 27 (8): 1109 –1111.
- Miller, R. M., and Jastrow, J. D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. En: Kapulnik, Y., and Douds, D. D. (eds). *Arhuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kluwer Academic Publishers. London. 3 - 18 pp.
- Miller, M. H., McGonigle, T. P. and Addy, H. D. 1995. Functional Ecology of Vesicular Arbuscular Mycorrhizas as Influenced by Phosphate Fertilization and Tillage in an Agricultural Ecosystem. *Critical Reviews in Biotechnology* 15 (3/4): 241 – 255.
- Montenegro, S. P. 2008. Influencia de la aplicación de vinaza sobre la presencia, actividad y biomasa microbiana del suelo en el cultivo de maíz dulce (*Zea Mays*). Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 148 p.
- Montenegro, D. y Malagón, D. 1990. *Propiedades físicas de los suelos*. Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC). Bogotá. 813 p.
- Morales, A. 2004. Identificación de compuestos orgánicos en vinaza. En: Encuentro sobre vinazas, potasio y elementos menores para una agricultura sostenible. Mayo 13 y 14. Palmira, Valle del Cauca. CD- Memorias.
- Morales, A., Castillo, C., Rubio, R., Godoy, R., Rouanet, J. y Borie, F. 2005. Niveles de glomalina en suelos de dos ecosistemas del sur de Chile. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal* 5 (1): 37-45. En línea: <http://mingaonline.uach.cl/pdf/rcsuelo/v5n1/art06.pdf>. (Consultada en agosto de 2008).
- Muñoz, O. A. y Ramírez, R. (datos sin publicar). Glomalina como indicador de colonización micorrizal y su efecto sobre la agregación de suelos degradados. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
- Narro, E. 1994. *Física de suelos con enfoque agrícola*. México. 195 p.

- Narváez, M. 2008. Evaluación de actividad de fosfatasas y deshidrogenasas por efecto de la aplicación de vinazas en suelos cultivados con maíz dulce *Zea mays L.* Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 124p.
- Navia, J. 2006. Impacto de aportes superficiales de biomasa vegetal de diferente calidad sobre poblaciones nativas de hongos formadores de micorriza arbuscular, HMA, rizobios y nemátodos, en un suelo agrícola de Santander de Quilichao, departamento del Cauca. Tesis de doctorado en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 136 p.
- Ocampo, A. 2004. Alcohol carburante: actualidad tecnológica. Revista EIA, N° 1 (febrero): 39-46. Medellín, Colombia. En línea, <http://revista.eia.edu.co/articulos1/4.pdf>. (Consultada en agosto de 2007).
- Pansu, M. and Gautheyrou, J. 2006. Physical Fractionation of Organic Matter. En: Handbook of soil analysis. En línea, <http://www.springerlink.com/content/?mode=allwordsandk=Physical+Fractionation+of+Organic+MatterandContent+Type=Book+Chaptersandsortorder=ascandCopyright=2006>. (Consultada en julio de 2007).
- Quintero, R. 2004. Perspectivas acerca del uso y manejo de vinazas aplicadas al suelo. En: Encuentro sobre vinazas, potasio y elementos menores para una agricultura sostenible. Mayo 13 y 14. Palmira, Valle del Cauca. CD- Memorias.
- Quintero, R., Cadena, S. F., y Briceño, C. O. 2006. Proyectos de investigación sobre uso y manejo de vinazas. En línea, <http://www.cengican.org/Portal/SubOtrasAreas/Etanol/Presentaciones/ProyectosInvestigacionSobreUsoManejo%20Vinaza.pdf>. (Consultada en julio de 2007).
- Reyes, J. 2001. Micelio externo de hongos micorrícicos arbusculares y su potencial influencia en la recuperación de suelos degradados de ladera del Cauca. Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 77 p.
- Rillig, M. C., Wright, S. F. Nichols, K. A., Schmidt, W. F. and Torn, M. S. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil* 233: 167–177.
- Rillig, M. C. and Steinberg, P. D. 2002. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? *Soil Biol Biochem* 34: 1371–1374.

- Rillig, M. C., Ramsey, P. W., Morris, S. and Paul, E. A. 2003. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant and Soil* 253: 293–299.
- Rillig, M. C. and Mummey, D. L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171 (1): 41-53.
- Rodríguez, M., Chaves, M. y Mojica, F. 1999. Estudio del efecto químico valorado a nivel de laboratorio de la aplicación de seis dosis crecientes de vinazas en cuatro profundidades, en dos tipos de suelo: Dystric haplustand y Ustic hunitropept. En línea, http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_XI/a50-6907-III_076.pdf. (Consultada en agosto de 2007).
- Rojas, L. M., Rojas, H. y Menjívar, J. C. 2008. Estimación de la conductividad hidráulica saturada in situ en un suelo tratado con vinaza. *Acta Agronómico* 57 (2): 125-128.
- Sánchez de P., M. 2003. Actividad biológica en la rizósfera del maracuyá – *Pasiflora edulis* var *Flavicarpa* – en diferentes sistemas de manejo, estados de desarrollo y condiciones fitosanitarias. Tesis doctoral. Universidad politecnica de Madrid. 261 p.
- Sánchez de P., M., Gómez, E., Muñoz, J. E., Barrios, E., Prager, M., Bravo, O., El-Sharwaki, M., Pérez, J., Asakawa, N., Marmolejo, F., Cadavid, L., Quintero, R., Miranda, J., Mier, C., Torres, R., Reyes, J., Zapata, C., Tofiño, R., Benjumea, C.; Díaz, G., Trujillo, L., Bonilla, F., Espinosa, J., Rodríguez, H., García, H., Triana, W., Carlosama, C., y Vargas, N. 2007. Las endomicorrizas, expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Editorial Feriva. 351 p.
- Sánchez de P., M. y Velásquez, D. C. 2008. Las Micorrizas: el micelio externo de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA). Cuadernos ambientales N° 12. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. 15 p.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agroecosystems. GTZ. Alemania. 371 p.
- Sieverding, E. 2008. Seminario de micorrizas en el trópico, encuentro de investigadores en micorrizas. Noviembre 12, 13 y 14 de noviembre. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.
- Steinberg, P. D. and Rillig, M. C. 2003. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalina. *Soil Biology & Biochemistry* 35: 191–194.

- Sylvia, D. M. 1988. Activity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol Biochem* 20 (Nº 1): 39–43.
- Tejada, M. and Gonzalez, J. L. 2006. The relationships between erodibility and erosion in a soil treated with two organic amendments. *Soil & Tillage Research* 91: 186–198.
- Tejada, M., Moreno, J. L. Hernandez, M. T. y García, C. 2007. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 119: 289–298.
- Tenório, Z., Carvalho, O., Ferreira da Silva, O., Montes, J. y López, F. 2000. Estudio de la actividad biológica de dos suelos de los tableros costeros del NE de Brasil enmendados con residuos agrícolas: vinaza y torta de caña de azúcar. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 4 (1): 70-74.
- Tisdall, J. M. and Oades, J. M. 1982. Organic matter and water stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* 33: 141–163.
- Torres, L. R. 2000. El papel del micelio externo de hongos que forman micorriza arbuscular asociado a barbechos mejorados en suelos degradados de ladera de Pescador, Cauca. Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 89 p.
- von Lütow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E., Marschner, B. 2007. SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms (Review). *Soil Biology & Biochemistry* 39: 2183–2207.
- Wright, S. F. and Upadhyaya, A. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci.* 161 (9): 575–586.
- Wright, S. F., Franke-Snyder, M., Morton, J. B. and Upadhyaya, A. 1996. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant and Soil* 181: 193–203.
- Wright, S. F. and Upadhyaya, A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular fungi. *Plant and Soil* 198: 97–107.

- Woomer, P. L., Martin, A., Albrecht, A., Resck, D. V. S. and Scharpenseel, H. W. 1994. The importance and management of soil organic matter in the tropics. En: Woomer, P. L and Swift M. S. (eds). *The Biological Management of Tropical Soil Fertility*. TSBF.
- Zárate, L. M. 2006. Dinámica temporal en la formación de micelio externo de hongos micorrízico arbusculares (HMA) y su impacto en la formación de agregados estables al agua. Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 108 p.
- Zuñiga, B., Durán, M. y Lozano, R. 2000. Cambios químicos en el suelo por aplicación de materia orgánica soluble tipo vinazas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 16 (003): 89–101. En línea, <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=37016301>. (Consultada en julio de 2007).

A N E X O S

Anexo 1. Metodologías para estimar las variables: micelio externo (ME) vivo y activo, glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT).

1-A. Tinción de micelio vivo y activo

Esta es una modificación de la tinción vital de la succinato deshidrogenasa (SDH), método usado en el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Santacruz de Tenerife, España (2007). El procedimiento realizado fue el siguiente:

- 5 g de suelo tamizado a 2 mm se adicionan a un beaker con 200 ml de agua deionizada (DI) y se agita con magneto durante 5 min.
- La solución de suelo se pasa a tamiz de 20 μm , tanto el beaker como el tamiz se lavan con 500 ml de agua DI (para limpiar un poco la muestra de arcillas), luego el suelo contenido en el tamiz se recoge con 250 ml de agua DI en el beaker.
- El beaker se deja en agitación y se toman 4 alícuotas de 5 ml cada una, para un total de 20ml que pasan a otro beaker con 160 ml de agua DI.
- De esta nueva dilución se toman 3 alícuotas fraccionadas de 1 ml c/u y se dejan en erlenmeyer con 3,5 ml de solución para tinción vital. La composición por litro, de esta solución, contiene 100 ml de succinato de sodio 2,5 M, 250 ml de azul de tetrazoilo (4mg/ml), 250 de trizma 0,2 M a pH 7.0, 100 ml de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5mM y 300 ml de agua DI.
- El erlenmeyer se tapa con papel aluminio y se lleva a incubación a 28°C por 12 a 16 horas con agitación suave.
- Luego de incubación el contenido del erlenmeyer se vierte sobre el tamiz de 20 μm , allí el micelio se lava con 500 ml de agua DI y posteriormente se recoge en beakers pequeños con 20 ml de hipoclorito al 3% y se deja por 5 min.
- El micelio con el hipoclorito se vierte sobre el tamiz, se lava con 500 ml de agua DI y se lleva a equipo de filtración al vacío con ayuda de un frasco lavador. El equipo debe poseer filtros de nitrocelulosa de 1.2 μm para capturar el micelio. Para contrastar la tinción del

micelio se aplica fucsina ácida (0,2 g/L) en una proporción de agua:fucsina de 2:1 y se deja teñir en el equipo, durante 1 hora.

- Finalmente los filtros de nitrocelulosa (aún posicionados en el equipo de filtración), se lavan y luego se montan sobre portaobjetos para su observación al microscopio, con magnificación de 200x y objetivo con cuadrícula para realizar el conteo por el método del intercepto, contando intersecciones vivas y no vivas. Los cálculos se realizan igual que para longitud de micelio externo.

1-B. Glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT) (Wright and Upadhyaya, 1998; Castillo, Rubio y Borie en INVAM, 2009).

El método consta de dos etapas básicas, una de extracción de la glomalina del suelo y otra de lectura de la misma en espectrofotómetro a 590 ó 595 nm.

- **Preparación de muestras de suelo**

Las muestras se toman antes del riego. Tanto para GFE como para GT se pesa un gramo de suelo tamizado a 2mm. Cada muestra deber contar con el valor correspondiente a contenido de humedad para hacer las correcciones de peso seco del suelo. Según Sieverding (2008) las muestras pueden guardarse en nevera a 4°C antes de su procesamiento (para este trabajo se almacenaron durante 70 días).

- **Extracción de glomalina**

Fácilmente extractable (GFE)

Se usan tubos de vidrio de 30 ml en los cuales se agregan, 1 g de suelo y 8 ml de citrato de sodio ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) a concentración de 20 mM y pH de 7.0, se agita y se lleva a autoclave a 121°C y 15 lb de presión durante 30 minutos. Pasado el tiempo, se deja enfriar y el

contenido de cada tubo se vierte en tubos de centrifuga de 12 ml de capacidad, luego se llevan a 3000 gravedades durante 15 minutos. El volumen del sobrenadante se mide y de éste se empacan 2.5 ml en tubos eppendorf para su lectura posterior, todo se guarda en nevera a 4°C. El sobrenadante solamente puede almacenarse por pocos días debido a que las muestras se contaminan.

Glomalina total (GT)

Se usan tubos de vidrio de 30 ml en los cuales se agregan, 1 g de suelo y 8 ml de citrato de sodio a concentración de 50 mM y pH de 8.0, se agita y se llevan a autoclave a 121°C y 15 lb de presión durante una hora. Pasado el tiempo, se deja enfriar la muestra y el contenido de cada tubo se vierte en tubos de centrifuga de 12 ml de capacidad y se llevan a 3000 gravedades durante 15 minutos. Luego, el sobrenadante se vierte en frascos de 100 ml aprox. para almacenar en nevera y el suelo que queda en el fondo de los tubos de centrifuga se desprende para agregarlo nuevamente a los tubos de vidrio de 30 ml que van a centrifuga. Se repite todo el proceso de extracción (8ml de citrato, autoclave y centrifuga) hasta que el sobrenadante alcance un color dorado, café o rojizo casi transparentes. En cada repetición el sobrenadante se vierte en el mismo frasco y al terminar el proceso de extracción se mide el volumen total recolectado. En general se requiere de 6 a 7 extracciones; sin embargo esto varía con el tipo de suelo. Luego de cuantificar el volumen total del sobrenadante se empacan 2.5 ml en tubos eppendorf para su lectura posterior, todo se guarda en nevera a 4°C.

- **Lectura de glomalina**

Se usa el método de Bradford (1976) para proteínas, sugerido por Wright and Upadhyaya (1998) y adaptado por Castillo, Rubio y Borie (2009), referenciados en las páginas web de la USDA y del INVAM:

http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/ad_hoc/54450000Glomalina/Bradford%20Total%20Protein%20Assay.pdf y <http://invam.caf.wvu.edu/methods/mycorrhizae/glomalina.htm>.

Para la cuantificación de la glomalina debe prepararse una curva estándar con suero albumina bovino fracción V (BSA) como patrón, PBS a pH 7.4 y reactivo Bradford como colorante, el procedimiento se describe a continuación:

Se prepara una solución madre de BSA, concentración de 2.5 mg BSA/ml de PBS. Para la preparación del PBS se utiliza NaCl 150 mM (se requieren 8,77 g del reactivo) y Na₂HPO₄.12H₂O 150mM (se requieren 53,72 g), disueltos en 1 L de agua destilada y pH ajustado a 7.4. Esta solución puede guardarse en nevera a 4°C. Se toma exactamente 1 ml de la solución madre de BSA y se afora a 100 ml con agua destilada, para construir la curva estándar de calibración como se muestra en la Tabla A.

Tabla A. Curva de calibración usando BSA como patrón.

Concentración	BSA Concentración (µg/ml)	BSA alícuotas (µl)	PBS alícuotas (ml)	Reactivo Bradford (ml)	Volumen Total (ml)
1	2.5	100	3.9	1	5
2	10	400	3.6	1	5
3	20	800	3.2	1	5
4	25	1000	3.0	1	5
5	37.5	1500	2.5	1	5
6	50	2000	2.0	1	5
7	--	--	4.0	1	5
Blanco	--	--	4.0	1	5

Fuente: Castillo, Rubio y Borie en INVAM, 2009.

Se usan tubos de vidrio de 12 ml, en los cuales se agrega el PBS y el BSA según las cantidades de la Tabla A., se agita y antes de hacer las lecturas en el espectrofotómetro se agrega el reactivo de Bradford, se agita y se deja reaccionar por 1 minuto. Las lecturas se realizan en espectrofotómetro a 590 ó 595 nm, utilizando una celda de cuarzo. Después de cada medición la celda de cuarzo se lava con alcohol al 70% y agua destilada para remover el

colorante. Para evitar errores en la determinación después de agregar el reactivo de Bradford, la lectura debe hacerse antes de 5 minutos.

Para la lectura de las muestras que contienen glomalina, los extractos almacenados en tubos eppendorf se sacan de la nevera, se llevan a microcentrifuga a 8000 rpm durante 15 minutos y se procede de la misma manera que en la curva de calibración. El BSA se reemplaza por los extractos que contienen la glomalina y éstos se adicionan en cantidades acordes con la carta de colores propuesta en las páginas web referenciadas.

Anexo 2. Análisis de varianza para las diferentes variables estimadas en el ensayo.

2-A. Análisis de varianza para longitud de micelio externo (LME) en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 23.9%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	128.9731364	32.2432841	15.87	<.0001
Error	17	34.5305000	2.0312059		
Corrected Total	21	163.5036364			

70 DDS. Coeficiente de variación: 29.9%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	127.7976000	31.9494000	5.03	0.0057
Error	20	126.9400000	6.3470000		
Corrected Total	24	254.7376000			

LME para cada tratamiento en cada época de muestreo.

Tratamiento	LME (m/g de suelo)		
	0 DDS	36 DDS	70 DDS
T0	4.1	4.5	7.4
T1	4.1	9.8	5.5
V3	4.1	4.2	8.6
V2	4.1	3.5	8.4
V1	4.1	7.3	12.4

2-B. Análisis de varianza para el porcentaje de micelio externo vivo y activo (MEV) en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 14.4%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	211.030500	52.757625	0.78	0.5545
Error	17	1152.249500	67.779382		
Corrected Total	21	1363.280000			

70 DDS. Coeficiente de variación: 13.7%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1708.348000	427.087000	6.61	0.0015
Error	20	1291.332000	64.566600		
Corrected Total	24	2999.680000			

MEV para cada tratamiento en cada época de muestreo.

Tratamiento	% de micelio vivo	
	36 DDS	70 DDS
T0	58	43
T1	54	64
V3	54	66
V2	63	57
V1	58	63

2-C. Análisis de varianza para glomalina fácilmente extractable (GFE) en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 15.4%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.00798400	0.00199600	1.74	0.1798
Error	20	0.02288000	0.00114400		
Corrected Total	24	0.03086400			

70 DDS. Coeficiente de variación: 12.7%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.00480587	0.00120147	1.42	0.2684
Error	18	0.01525500	0.00084750		
Corrected Total	22	0.02006087			

2-D. Análisis de varianza para glomalina total (GT) en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 13.8%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.32542167	0.08135542	2.13	0.1247
Error	16	0.61204500	0.03825281		
Corrected Total	20	0.93746667			

70 DDS. Coeficiente de variación: 6.6%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.18167857	0.04541964	4.76	0.0101
Error	16	0.15275000	0.00954688		
Corrected Total	20	0.33442857			

GT para cada tratamiento en cada época de muestreo.

Tratamiento	GT (mg/g de suelo)		
	0 DDS	36 DDS	70 DDS
T0	1,8	1,3	1,6
T1	1,8	1,2	1,3
V3	1,8	1,5	1,5
V2	1,8	1,4	1,5
V1	1,8	1,5	1,5

2-E. Análisis de varianza para la fracción liviana de materia orgánica (LL) en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 8.7%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	4.40141373	1.10035343	10.22	0.0008
Error	12	1.29203333	0.10766944		
Corrected Total	16	5.69344706			

70 DDS. Coeficiente de variación: 8.1%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	8.59596886	2.14899221	9.49	0.0006
Error	14	3.17064167	0.22647440		
Corrected Total	18	11.76661053			

LL para cada tratamiento en cada época de muestreo.

Tratamiento	LL (g/Kg de suelo)		
	0 DDS	36 DDS	70 DDS
T0	2,5	3,3	4,4
T1	2,5	4,0	6,5
V3	2,5	2,9	6,2
V2	2,5	4,3	5,9
V1	2,5	4,0	5,7

2-F. Análisis de varianza para la fracción mediana de materia orgánica (LM) en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 28.4%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.00920343	0.00230086	1.06	0.4170
Error	12	0.02600833	0.00216736		
Corrected Total	16	0.03521176			

70 DDS. Coeficiente de variación: 33.5%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.04465245	0.01116311	1.72	0.2108
Error	12	0.07804167	0.00650347		
Corrected Total	16	0.12269412			

2-G. Análisis de varianza para la fracción pesada de materia orgánica (LH) en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 44.4%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.02726944	0.00681736	2.44	0.0993
Error	13	0.03630833	0.00279295		
Corrected Total	17	0.06357778			

70 DDS. Coeficiente de variación: 26%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.04972500	0.01243125	4.16	0.0243
Error	12	0.03587500	0.00298958		
Corrected Total	16	0.08560000			

LH para cada tratamiento en cada época de muestreo.

Tratamiento	LH (g/Kg de suelo)		
	0 DDS	36 DDS	70 DDS
T0	0.3	0,2	0,2
T1	0.3	0,1	0,2
V3	0.3	0,1	0,2
V2	0.3	0,1	0,2
V1	0.3	0,1	0,3

2-H. Análisis de varianza para macroagregados del suelo de tamaño >2 mm en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 68%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	87.2905040	21.8226260	1.18	0.3487
Error	20	369.1499200	18.4574960		
Corrected Total	24	456.4404240			

70 DDS. Coeficiente de variación: 41%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	2288.471508	572.117877	9.64	0.0002
Error	19	1127.161755	59.324303		
Corrected Total	23	3415.633262			

Porcentaje de macroagregados (>2 mm) para cada tratamiento en cada época de muestreo.

Tratamiento	% macroagregados	
	36 DDS	70 DDS
T0	9,2	6,2
T1	4,2	6,5
V3	4,4	24,5
V2	7,3	24,6
V1	6,4	29,5

2-I. Análisis de varianza para microagregados del suelo de tamaño <0.25 mm en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 18.5%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1021.226824	255.306706	2.66	0.0626
Error	20	1917.028080	95.851404		
Corrected Total	24	2938.254904			

70 DDS. Coeficiente de variación: 15%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1232.511188	308.127797	5.83	0.0031
Error	19	1003.344595	52.807610		
Corrected Total	23	2235.855783			

Porcentaje de microagregados (<0.25 mm) para cada tratamiento en cada época de muestreo.

Tratamiento	% microagregados	
	36 DDS	70 DDS
T0	47,6	58,5
T1	60,9	54,9
V3	60,5	47,0
V2	46,2	42,0
V1	49,6	39,5

2-J. Análisis de varianza para el diámetro ponderado medio (DPM) en cada época de muestreo.

36 DDS. Coeficiente de variación: 19.2%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.11898400	0.02974600	2.41	0.0827
Error	20	0.24636000	0.01231800		
Corrected Total	24	0.36534400			

70 DDS. Coeficiente de variación: 15%

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.65938333	0.16484583	12.21	<.0001
Error	19	0.25660000	0.01350526		
Corrected Total	23	0.91598333			

Diámetro ponderado medio para cada tratamiento en cada época de muestreo.

Tratamiento	% microagregados	
	36 DDS	70 DDS
T0	0,6	0,5
T1	0,5	0,6
V3	0,5	0,8
V2	0,6	0,9
V1	0,6	1,0

Anexo 3. Rangos para interpretar la estabilidad estructural con relación al diámetro ponderado medio (DPM).

DPM (mm)	Estabilidad estructural
< 0.5	Inestable
0.5 – 1.5	Ligeramente estable
1.5 – 3.0	Moderadamente estable
3.0 – 5.0	Estable
> 5.0	Muy estable

Fuente: Montenegro y Malagón (1990).