

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN UN SUELO BAJO
COBERTURA DE CHOCHO *Lupinus mutabilis* L. EN UN ANDISOL, PASTO,
NARIÑO**

ANDREA FERNANDA HERNANDEZ

YESID HERNANDO RAMIREZ DAZA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROFORESTAL

PASTO – COLOMBIA

2012

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN UN SUELO BAJO
COBERTURA DE CHOCHO *Lupinus mutabilis* L. EN UN ANDISOL, PASTO,
NARIÑO**

ANDREA FERNANDA HERNANDEZ

YESID HERNANDO RAMIREZ DAZA

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero
Agroforestal**

Presidente:

JORGE ALBERTO VÉLEZ LOZANO M.Sc

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROFORESTAL
PASTO – COLOMBIA**

2012

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones aportadas en el siguiente trabajo son responsabilidad exclusiva del autor.

Artículo 1^o del Acuerdo no. 324 de octubre 11 de 1966 emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Firma del Presidente de tesis

Firma de jurado

Firma de jurado

San Juan de Pasto, Noviembre 6 de 2012

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN.....	8
METODOLOGÍA.....	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
CONCLUSIONES.....	27
AGRADECIMIENTOS	28
BIBLIOGRAFÍA	28

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN UN SUELO BAJO
COBERTURA DE CHOCHO (*Lupinus mutabilis* L.) EN UN ANDISOL, PASTO,
NARIÑO**

**EVALUATION OF THE MICROBIAL ACTIVITY IN A SOIL UNDER
COVERAGE OF CHOCHO (*Lupinus mutabilis* L.) IN AN ANDISOL, PASTO,
NARIÑO¹**

Andrea Fernanda Hernández Ch.²

Yesid Hernando Ramírez D.²

Jorge Alberto Vélez L.³

RESUMEN

El estudio se realizó en el corregimiento de Daza, municipio de Pasto, Departamento de Nariño, ubicado a 1° 15' 42'' Latitud Norte y 77° 17' 04'' Longitud Oeste. Se realizó el conteo por número de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo, a través de la metodología de dilución serial (10^{-3} a 10^{-9}) en siembras de medios modificados para cada microorganismo, para bacterias y hongos medio Esga, para actinomicetos medio C'zapek y para bacterias fijadoras de nitrógeno medio Agel. Se cuantificó la actividad de los microorganismos del suelo, a través de la producción de CO₂ en la respiración microbiana, en términos de mg CO₂/10g de suelo.

¹ Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Agroforestal

² Estudiante de Ingeniera Agroforestal; Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. 2012; E-mail: haner2.ah@hotmail.com, yesid8907@hotmail.com

³ I.AF., M. Sc. Profesor Tiempo Completo; Facultad de Ciencias Agrícolas, Programa de Ingeniería Agroforestal. Universidad de Nariño. 2012; E-mail: jvelezlozano@gmail.com

La población bacteriana se presentó en mayor abundancia en el suelo rizosférico sin tener en cuenta la cantidad de fósforo aplicada, mientras que otras poblaciones microbianas como hongos, bacterias fijadoras de nitrógeno y actinomicetos, se evidenciaron en mayor abundancia en el suelo rizosférico a medida en que se incrementa las dosis de fósforo.

La medida de la actividad microbiana, a través de la producción de CO₂, muestra que esta es mayor en el suelo rizosférico y a medida que se incrementan las dosis de fósforo.

Palabras claves: Respiración, Microorganismos, Unidades Formadoras de Colonias, Medios de Cultivo, Rizósfera.

ABSTRACT

The study was conducted in the corregimiento of Daza, municipality of Pasto, Department of Nariño, located at 1° 15' 42" north latitude and 77° 17' 04" West longitude. The count was conducted by number of colony forming units (CFU) per gram of soil, through the serial dilution methodology (10⁻³ to 10⁻⁹) in plantings of modified for each microorganism, for bacteria and fungi means Esga for actinomycetes medium Czapek and for nitrogen fixing bacteria means Agel. We quantified the activity of microorganisms in the soil, through the production of CO₂ in the microbial respiration, in terms of mg CO₂/10g soil.

The bacterial population are presented in greater abundance in the rhizospheric soil without taking into account the amount of phosphorus applied, while other populations such as microbial fungi, nitrogen fixing bacteria and actinomycetes, evidenced in greater abundance in the rhizospheric soil as and when they increase the dose of phosphorus.

The extent of microbial activity, through the production of CO₂, shows that it is higher in the rhizospheric soil and to increase as the dose of fósforo.

INTRODUCCIÓN

Las relaciones que se presentan en el sistema planta - suelo, se deben en gran parte a los microorganismos que habitan en la rizósfera (Bethlenfalvay y Linderman, 1992), en esta zona algunos microorganismos penetran las células vivas de la raíz, sin dañarlas, mientras que sus hifas se extienden en el suelo para establecer un estrecho contacto con este y con otros microorganismos (Read, 1991). En este sentido, las leguminosas liberan compuestos orgánicos a la rizósfera sustentando una población muy grande de microorganismos (Cardoso, 1992), manifestándose en la respiración de suelo, considerándose éste, como un proceso que refleja la actividad biológica del mismo y es notorio a través del desprendimiento de CO₂ y el consumo de O₂ resultante del metabolismo de los organismos vivos existentes en el suelo (González, 2009).

Gómez (2000), afirma que las bacterias representan entre el 25 y 30% de la biomasa microbiana del suelo, comportándose como los organismos más numerosos del suelo (entre 10⁶ y 10⁷ bacterias g⁻¹ de suelo) y Olalde y Aguilera (1998), manifiestan que los hongos, dado su mayor tamaño y presentando menor abundancia, evidencia la biomasa más significativa. Las tasas de respiración del suelo han sido medidas en gran variedad de ecosistemas con el fin de evaluar la actividad microbial, el reciclaje de nutrientes, los flujos de carbono y energía, la dinámica de las raíces, y otros procesos (Singh y Gupta, 1977; Burbano, 1989).

La población microbiana juega un papel muy importante dentro del suelo con relación a la nutrición de la planta, al respecto, Garza y Valdés (2000), mencionan que los hongos micorrícicos son responsables del aumento en la capacidad de exploración del suelo por la raíz e incluso sirven como órgano de absorción de la planta, ya que se presenta una protección física contra la entrada de patógenos a la raíz y por ende, a la planta; otro ejemplo de estas interacciones planta-microorganismos, lo constituye la fijación biológica de nitrógeno, en la cual bacterias del género *Rhizobium*, en las leguminosas, contribuyen a

la conversión del nitrógeno atmosférico a compuestos nitrogenados que son asimilables por las plantas y que se refleja en la ganancia de biomasa de éstas.

En cuanto a la abundancia microbiana, Calvo, P. et al. (2008), estudió las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas alto andinas de Perú (San José de Aymara en Huancavelica y en el departamento de Puno), en donde se empleó fertilización orgánica y química (N-P-K) en presencia de dos variedades: Peruanita y Amarilla Tumbay (variedades nativas) y encontró que la población de bacterias totales en la rizósfera de las regiones muestreadas siempre fue mayor que la población de hongos; Puno registró mayores poblaciones de bacterias totales. También observó un efecto de la variedad de papa sobre las poblaciones de estos microorganismos en la rizósfera, confirmando la influencia de los exudados de la planta sobre las poblaciones rizosféricas. Del total de 17 muestras procesadas obtuvo 63 aislamientos de *Bacillus* spp., 29 (46%) de Huancavelica y 34 (54%) de Puno; 37 aislamientos de Actinomicetos, 32 (87%) de Huancavelica y 5 (13%) de Puno y 50 aislamientos de *Azotobacter* spp., 37 (74%) de Huancavelica y 13 (26%) de Puno, observándose para estos dos últimos casos una mayor diversidad en suelos de pH ácido.

En Colombia, Trujillo P. y Rivera B. (2010), realizaron un estudio similar a este, en donde se identificó y cuantificó la actividad microbiana y macrofauna de un Andisol bajo diferentes sistemas de manejo en el municipio de Marinilla, en Antioquia; en el cual se cuantificó la actividad de la biota del suelo a través de la producción de CO₂, se realizó conteo por número de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo seco y se cuantificó la macrofauna asociada a los suelos; encontrando que el suelo virgen presentó la mayor respiración con 0,6g CO₂ kg⁻¹ y la menor la reportó el suelo con más de 20 años de labranza con una producción promedio de 0,0087 g CO₂ kg⁻¹. El suelo con 10 años de labranza presentó 136 UFC de hongos. La mayor abundancia de morfoespecies de la macrofauna se encontró en el suelo virgen y estuvo representada principalmente por la clase insecta, lo que significa que no existe una correlación directa entre el componente microbiano y la macrofauna, pero sí existe, entre el historial de manejo y la respiración, siendo la mayor influencia de esta la macrofauna.

En lo que se refiere a la actividad microbiana del suelo, Silva, Coral y Menjivar, (2006) evaluaron el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la actividad microbiana y rendimiento de avena forrajera en un suelo andisol del departamento de Nariño en Colombia, específicamente en el centro experimental Botana de la universidad de Nariño, en el corregimiento de Catambuco, municipio de Pasto, en donde se tuvo en cuenta los cambios en la actividad microbiana por efecto de la aplicación de tres fuentes nitrogenadas al suelo: nitrato de potasio (13% de N y 44% de K_2O), sulfato de amonio (21% de N y 24% de S) y colácteos (27% de N, 10% de K y 6% de P), en tres épocas de aplicación (a la siembra, a los 45 días y fraccionado) y en tres dosis (25, 75 y 150 kg/ha) y se observó que la actividad microbiana se incrementó con la aplicación del fertilizante a la siembra y a los 45 días y con las dosis altas, sin importar la fuente utilizada. La época de aplicación no afectó el número de bacterias, ni la población de hongos pero sí la de actinomicetos, cuyo número se incrementó con la aplicación del fertilizante al momento de la siembra. Las dosis altas de nitrato de potasio incrementaron las poblaciones de bacterias y actinomicetos. Los contenidos de materia seca se incrementaron cuando se aplicó todo el fertilizante en la siembra o a los 45 días, mientras que los máximos rendimientos en forraje fresco, materia seca y proteína se obtuvieron con 75 y 150 kg/ha. En cuanto a las fuentes los mayores rendimientos en forraje fresco, materia seca y proteína se obtuvieron, respectivamente, con nitrato de potasio, sulfato de amonio y colácteos.

Este estudio hace parte del macro proyecto “Variaciones en el pH rizosférico del chocho *Lupinus mutabilis* L., a la fertilización fosfatada de baja solubilidad en un andisol del altiplano de Pasto, departamento de Nariño, financiado por la vicerrectoría de investigaciones, postgrados y relaciones internacionales (VIPRI) de la Universidad de Nariño para el año 2011, teniendo como objetivo evaluar la actividad microbiana en un suelo rizosférico y no rizosférico, de la leguminosa *Lupinus mutabilis* L. bajo condiciones de invernadero con sustrato proveniente del Corregimiento de Daza, Municipio de Pasto.

METODOLOGÍA

La investigación se realizó en el centro ambiental Chimayoy, corregimiento de Daza, municipio de Pasto, a una altura de 2750 msnm, ubicado a 1° 15' 42'' latitud norte y 77° 17' 04'' longitud oeste, presenta una temperatura promedio de 12°C y una precipitación anual de 800mm. Los suelos de este corregimiento pertenecen al conjunto Meneses y al subgrupo Typic Dystrandept, cuyas características principales son: suelos superficiales a moderadamente profundos limitados por abundantes fragmentos rocosos, bien drenados, de textura franco-gruesa o franco fina, presentan reacción ligeramente ácida, son muy pobres en fósforo, alta capacidad catiónica, baja saturación de bases, altos contenidos de materia orgánica y de fertilidad baja. (IGAC, 2003).

En diferentes lugares del sitio de estudio, se tomaron muestras de suelo de los primeros 40 cm de profundidad, en núcleos de pvc de dimensiones de 11 x 40 cm, que posteriormente se llevaron al invernadero del centro internacional de producción limpia-Lope del SENA, en donde se llevo a cabo la fase de germinación y crecimiento. En cada núcleo de pvc se sembró una semilla de *Lupinus mutabilis* L. a 2 centímetros de profundidad, en los primeros 20cm de suelo, se aplicó una dosis de fuente fosfatada de 0 – 25 – 50 kg\ha y los riegos se realizaron con agua, cada 2 a 3 días, manteniendo siempre la humedad próxima a la capacidad de campo.

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño Irrestringidamente al Azar (DIA), con arreglo factorial 2x3x2 con doce (12) tratamientos y tres (3) replicaciones, para un total de treinta y seis (36) unidades experimentales, en donde:

- El factor A, estaba conformado por dos fuentes fosfatadas de distinta solubilidad, (Fosforita Huila y Rafos).
- El factor B, representado por tres (3) dosis de aplicación (0, 25 y 50kg de fósforo (P) por hectárea).

- El factor C, correspondió al suelo tomado a dos distancias respecto de la raíz (0cm-suelo rizosférico y 5cm-suelo no rizosférico).

Descripción de Tratamientos

Los tratamientos empleados se describen en la siguiente tabla 1.

Tabla 1. Descripción de Tratamientos Utilizados en el Presente Estudio

Tratamiento	Factor A	Factor B	Factor C
1	Fosforita Huila	0 kg	0 cm (Rizosférico)
2	Fosforita Huila	0 kg	5 cm (No Rizosférico)
3	Fosforita Huila	25 kg	0 cm (Rizosférico)
4	Fosforita Huila	25 kg	5 cm (No Rizosférico)
5	Fosforita Huila	50 kg	0 cm (Rizosférico)
6	Fosforita Huila	50 kg	5 cm (No Rizosférico)
7	Rafos	0 kg	0 cm (Rizosférico)
8	Rafos	0 kg	5 cm (No Rizosférico)
9	Rafos	25 kg	0 cm (Rizosférico)
10	Rafos	25 kg	5 cm (No Rizosférico)
11	Rafos	50 kg	0 cm (Rizosférico)
12	Rafos	50 kg	5 cm (No Rizosférico)

Treinta días después de la germinación, se recolectaron las 36 muestras para la primera evaluación, para lo cual se extrajo todo el suelo de cada uno de los núcleos y se lo colocó en una mesa con el fin de tomar la cantidad suficiente de suelo rizosférico y no rizosférico.

Este mismo procedimiento se realizó a los 60 y 90 días después de la germinación (segunda y tercera evaluación). Una vez se terminaba de recolectar todas las muestras de suelo, estas eran llevadas a los laboratorios de la Universidad de Nariño, en donde cada una de estas era empleada para evaluar abundancia e identificación de microorganismos y parte se utilizaba para determinar respiración del suelo.

Variables Evaluadas

❖ Cuantificación de Poblaciones Microbianas

La metodología utilizada corresponde a la adoptada por el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.

Se tomaron las muestras de suelo por triplicado para cada unidad experimental y fueron secadas al aire, luego se tamizaron a 2mm y se retiraron 10g de suelo para la estimación de unidades formadoras de colonias de microorganismos (UFC), mediante la preparación en diluciones en serie hasta 10^{-9} y conteos en platos de dilución, tomando tres repeticiones para cada dilución (Correa, 2001).

Para lograr una buena inoculación, desarrollo y multiplicación de cada microorganismo presente en el suelo, se prepararon medios de cultivos específicos: Extracto de suelo–glucosa–agar (ESGA) para bacterias y hongos, medio Czapek y agar–glicerol–extracto de levadura (AGEL) para actinomicetos y medio Agar–Extracto de levadura de manitol rojo congo para bacterias fijadoras de nitrógeno.

El número de diluciones dependió del tipo de microorganismos que se deseaba aislar. Para bacterias se empleó las diluciones 10^{-4} a 10^{-9} , para hongos y para fijadoras de nitrógeno 10^{-4} a 10^{-7} y para actinomicetos 10^{-3} a 10^{-7} .

Las unidades formadoras de colonias (UFC) se calcularon de la siguiente forma:

$$\text{UFC/gramo suelo} = 10^4 * ((T + P + 10^0 + T * P * 10^1 + T * P * 10^2 + T * P * 10^3 + T * P * 10^4 + T * P * 10^5) / n)$$

Donde:

10^4 = Factor común para las diluciones para los actinomicetos este factor es 10^3

T = Total de colonias contadas en la dilución 10^0

P = Promedio de colonias contadas en la dilución.

N = Número total de colonias contadas en todas las diluciones.

❖ Respiración del Suelo

La metodología utilizada corresponde a la propuesta por Burbano (1978), en donde, las muestras utilizadas para evaluar esta variable, eran colocadas en un lugar oscuro y a temperatura ambiente durante 1 semana, con el fin de disminuir la humedad, conservando la actividad microbiana del suelo.

Al cabo de 1 semana, las muestras se pasaban por un tamiz de 2mm, hasta obtener 10 gramos de suelo, que se colocaban en tubos de ensayo de 2x15mm en donde se adiciono entre 5 y 6ml de agua destilada con el fin de que el contenido de humedad correspondiera al de capacidad de campo. Para determinar la cantidad de agua a adicionar, se realizaron ensayos previos al montaje de las muestras.

En cada uno de los tubos de ensayo se introdujo un vial que contenía 0,2g de peróxido de bario (BaO_2) y dos (2) gotas de hidróxido de bario ($Ba(OH)_2$), una vez se introducía el vial, de inmediato se procedía a tapar el tubo de ensayo.

Los tubos de ensayo se colocaban a incubar en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente durante 8 semanas, realizando mediciones cada semana (7 días).

Medición de CO_2 : Se determino el CO_2 al concluir cada periodo de incubación (7 días). Se retiraba el vial del tubo de ensayo y se lo colocaba en el frasco del calcímetro junto con un tubo plástico que contenía 5ml de HCl al 37%. Se enrasaba a cero la columna del calcímetro, tomando la precaución de que todas las llaves del aparato se encuentren cerradas. El frasco del calcímetro era agitado durante un minuto, con el fin de colocar en contacto el carbonato de bario ($BaCO_3$), con el ácido clorhídrico (HCl), para lograr el desprendimiento del CO_2 . Se leían los milímetros que el líquido desplazaba en la columna del calcímetro por la presión del CO_2 desprendido.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO. Se realizó análisis de varianza y en las variables donde se presentaron diferencias significativas se realizaron pruebas de comparación de medias de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

COMPONENTE MICROBIANO

Bacterias

El análisis de varianza para abundancia de bacterias, indica diferencias significativas para suelo a diferentes distancias respecto de la raíz. No se evidencian diferencias estadísticas para fuentes fosfatadas, dosis de aplicación, interacción fuentes fosfatadas por dosis de aplicación, fuentes fosfatadas por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz, dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz y fuentes fosfatadas por dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz. (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis de varianza para abundancia de bacterias del suelo en un andisol sometido a diferentes dosis y fuentes fosfatadas.

F.V.	SC	gl	F	p-valor
Modelo	2,1*10 ³¹	13	5,05	0,0004
BLOQUE	1,4*10 ³⁰	2	22,48	<0,0001
FUENTE	3,7*10 ²⁸	1	0,12 ^{ns}	0,7365
DOSIS	1,6*10 ³⁰	2	2,50 ^{ns}	0,1055
SUELO	4,1*10 ³⁰	1	12,83 ^{**}	0,0017
FUENTE*DOSIS	3,2*10 ²⁸	2	0,05 ^{ns}	0,9501
FUENTE*SUELO	4,9*10 ²⁸	1	0,02 ^{ns}	0,9027
DOSIS*SUELO	8,1*10 ²⁹	2	1,27 ^{ns}	0,3014
FUENTE*DOSIS*SUELO	1,6*10 ²⁸	2	0,03 ^{ns}	0,9752
Error	7,0*10 ³⁰	22		
Total	2,8*10³¹	35		

^{**}: altamente significativo al 99% de confiabilidad

^{ns}: no significativo

Según la prueba de comparación de medias de Tukey, el suelo rizosférico con un promedio de 3.4*10⁷ UFC de bacterias, presento diferencias estadísticas significativas respecto al suelo no rizosférico con un promedio de 1.2*10⁷ UFC de bacterias. (Tabla 3).

Tabla 3. Prueba de Comparación de medias de Tukey para Suelos a Distintas distancias respecto de la Raíz a través de la Cuantificación UFC para Bacterias.

SUELO	Medias	
Rizosférico	$3.4 \cdot 10^7$	a
No Rizosférico	$1.2 \cdot 10^7$	b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

La abundancia de bacterias en la rizósfera se debe al rápido crecimiento y la habilidad que presentan de utilizar un amplio rango de sustratos como fuentes de carbono o nitrógeno (Glick, 1995). Las sustancias o exudados producidos por las raíces ofrecieron una fuente energética, disponibilidad de sustratos, nutrientes y factores de crecimiento microbiano en la rizósfera logrando de esta manera crear una dinámica poblacional (Reyes & Valery, 2007).

La cantidad de bacterias que se encontraron pudo haber estado influenciada por factores como: tipo de suelo, vegetación, contenido de humedad, tipo de labranza y fertilización, como lo menciona (Killian et al., 2001). Si se habla de hábitat específico de las bacterias, algunas se pueden encontrar adheridas a la superficie de las partículas de suelo como agregados o interactuando específicamente con las raíces de las plantas; sin embargo, la concentración de bacterias por gramo de suelo que se halla alrededor de las raíces de las plantas en la llamada rizósfera es mucho mayor que en el resto del suelo (Lynch, 1990).

Hongos

El análisis de varianza para abundancia de hongos, indica diferencias altamente significativas para suelo a distintas distancias respecto de la raíz, de igual forma se evidencian diferencias significativas para dosis de aplicación y se presentan diferencias estadísticamente significativas para la interacción dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz. No se aprecia diferencias estadísticas para fuentes fosfatadas, interacción fuentes fosfatadas por dosis de aplicación, dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz y fuentes fosfatadas por dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz. (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de varianza para abundancia de hongos del suelo en un andisol sometido a diferentes dosis y fuentes fosfatadas.

F.V.	SC	gl	F	p-valor
Modelo	6,0*10 ²³	13	8,18	<0,0001
BLOQUE	1,2*10 ²²	2	11,10	0,0005
FUENTE	9,7*10 ²⁰	1	0,17 ^{ns}	0,6824
DOSIS	1,2*10 ²³	2	11,27 ^{**}	0,0004
SUELO	2,7*10 ²³	1	49,37 ^{**}	<0,0001
FUENTE*DOSIS	1,3*10 ²⁰	2	0,12 ^{ns}	0,8868
FUENTE*SUELO	1,7*10 ²⁰	1	0,03 ^{ns}	0,8620
DOSIS*SUELO	6,5*10 ²²	2	5,81 ^{**}	0,0094
FUENTE*DOSIS*SUELO	9,8*10 ²²	2	0,09 ^{ns}	0,9169
Error	1,2*10 ²²	22		
Total	7,2*10²³	35		

^{**}: altamente significativo al 99% de confiabilidad

^{ns}: no significativo

La prueba de comparación de medias evidencia efectos de interacción entre dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz, es decir que los suelos afectan la abundancia hongos de forma diferencial, a ciertos niveles de aplicación de fosforo.

Según la prueba de comparación de medias de Tukey, el suelo rizosférico sometido a 50kg/ha de fosforo con un promedio de 8,1*10⁷ UFC de Hongos presento diferencias estadísticas significativas respecto al suelo no rizosférico sin aplicación de fosforo con un promedio de 1,3*10⁷ UFC de Hongos, (Tabla 5).

Tabla 5. Prueba de Comparación de medias de Tukey para Suelos con Distintas Distancias Respecto de la Raíz a través de la Cuantificación UFC para Hongos.

Dosis	Suelo	Medias			
50,00	Rizosférico	8,1*10 ⁷	a		
25,00	Rizosférico	6,2*10 ⁷	a	b	
0,00	Rizosférico	5,2*10 ⁷	a	b	
50,00	No rizosférico	3,3*10 ⁷		b	c
25,00	No rizosférico	1,9*10 ⁷			c
0,00	No rizosférico	1,3*10 ⁷			c

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Se observó una mayor incidencia de colonización por parte de los hongos en las partículas provenientes del suelo rizosférico, resultados que se relacionan con la posible existencia de una mayor proporción de micelio activo en la rizósfera de *Lupinus sp*, debido a las condiciones más favorables para el crecimiento y desarrollo de los organismos en este hábitat (Lee y Pankhurst, 1992; Valencia y Peña, 2001). Los exudados, la descomposición de células radicales y las diferencias en el microclima alrededor de las raíces, condicionan una composición florística propia. En tanto que las condiciones propias del suelo no rizosférico libre de raíces determinan una mayor escasez de elementos nutritivos, pudiendo limitar las fases de mayor actividad metabólica de los hongos.

Todo esto indica que la dinámica microbiana en la rizósfera puede variar considerablemente de la dinámica poblacional del suelo, y la presencia de microorganismos puede estar altamente influenciada por los exudados vegetales y por otras poblaciones propias de la rizósfera.

La aplicación de P, provoca un crecimiento en la longitud de las raíces y le proporciona una mayor área de colonización a las poblaciones de hongos en el suelo (Jones et al., 1990), a su vez las bajas concentraciones de P en el suelo provoca que la colonización de hongos en las raíces sea menor (Bolan et al., 1984).

Resultados coincidentes con los encontrados por Azizah y Ragu (1986), quienes encontraron que la aplicación de fósforo influenció considerablemente el desarrollo de hongos, en suelos deficientes en fosforo, consiguiendo un incremento en el porcentaje de colonización de las raíces cuando se aplicó dosis de fósforo y una reducción en la colonización al incrementar la dosis, debido a que el fosforo disponible en el suelo aumenta la biomasa de la planta y favorece la descomposición de material orgánico presente en el suelo, esto ayuda a que las colonias de hongos se aumenten y solubilizan el fosfato para que las raíces absorban este elemento.

Bacterias Fijadoras de Nitrógeno

El análisis de varianza para abundancia de bacterias fijadoras de nitrógeno, indica diferencias altamente significativas para suelo a diferentes distancias respecto de la raíz, del mismo modo se aprecia diferencias significativas para dosis de aplicación. No se evidencian diferencias estadísticas para fuentes fosfatadas, interacción fuentes fosfatadas por dosis de aplicación, fuentes fosfatadas por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz, dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz y fuentes fosfatadas por dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz. (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de varianza para Abundancia de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno del suelo en un Andisol sometido a diferentes dosis y fuentes fosfatadas.

F.V.	SC	gl	F	p-valor
Modelo	4,0*10 ²⁶	13	9,40	<0,0001
BLOQUE	1,8*10 ²⁷	2	28,45	<0,0001
FUENTE	4,3*10 ²⁵	1	1,3 ^{ns}	0,2612
DOSIS	3,6*10 ²⁶	2	5,51*	0,0115
SUELO	1,6*10 ²⁷	1	50,79**	<0,0001
FUENTE*DOSIS	5,0*10 ²⁴	2	0,76 ^{ns}	0,4789
FUENTE*SUELO	7,0*10 ²⁴	1	0,21 ^{ns}	0,6478
DOSIS*SUELO	9,7*10 ²⁴	2	0,15 ^{ns}	0,8640
FUENTE*DOSIS*SUELO	5,9*10 ²⁴	2	0,09 ^{ns}	0,9147
Error	7,2*10 ²⁶	22		
Total	4,7*10²⁷	35		

** : altamente significativo al 99% de confiabilidad

* : diferencias significativas al 95% de confiabilidad

^{ns} : no significativo

Según la prueba de comparación de medias de Tukey, el suelo rizosférico con un promedio de 6.5*10⁶ UFC de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno presento diferencias estadísticas significativas respecto al suelo no rizosférico con un promedio de 2.2*10⁶ UFC de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno (Tabla 7).

Tabla 7. Prueba de comparación de medias de Tukey para suelo a diferentes distancias respecto de la raíz, a través de la cuantificación de UFC para bacterias fijadoras de nitrógeno.

SUELO	Medias	
Rizosférico	$6.5 \cdot 10^6$	a
No Rizosférico	$2.2 \cdot 10^6$	b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Se ha observado que las plantas aumentan la cantidad de exudados liberados a la zona radicular para favorecer un aumento en la población microbiana asociada a ella, más aun, cuando la planta está en condiciones de estrés hídrico o nutricional (Souhie & de Souza Abboud, 2007). Lynch & Whipps (1990), hallaron que las plantas pueden liberar a la rizósfera hasta un 40 % del carbón total fijado por fotosíntesis para asegurar la asociación, además la rizósfera es un zona con elevada concentración de compuestos orgánicos fácilmente degradables debido a la exudación radical, razón por la cual las bacterias encuentran este lugar muy apropiado para fijar nitrógeno (Glick, 1995).

Lupinus es una leguminosa que favorece la relación simbiótica, las raíces liberan compuestos que permiten la multiplicación de las bacterias y la colonización de la rizósfera, (Mayz, 1997) De hecho, las características físico-químicas de dicha región hacen de ella un lugar muy adecuado para el crecimiento de microorganismos (Bazin M.J. y col., 1990), de los cuales los más abundantes son las bacterias, en gran parte propiciado por la presencia de los exudados de la leguminosa ricos, entre otros, en compuestos carbonados. Entre el 10% y el 30% de los fotosintatos de la planta son secretados en los exudados radiculares (Bowen G.D. y Rovira A.D., 1999) abarcando carbohidratos, ácidos orgánicos, vitaminas, aminoácidos y derivados fenólicos. Entre dichos compuestos se encuentran los flavonoides (derivados del 2-fenil-1,4-benzopirona) cuya composición va a variar dependiendo de la especie, y que además de ser metabolizados, desencadenan una serie de respuestas específicas en los rizobios circundantes apropiados. Así, algunos de estos compuestos fenólicos atraen a las fijadoras de nitrógeno como los rizobium (Sánchez, 1990).

Teniendo en cuenta la prueba de comparación de medias de Tukey, la dosis 50kg/ha con un promedio de $5.7 \cdot 10^6$ UFC de bacterias fijadoras de nitrógeno presentó diferencias estadísticas significativas respecto a la dosis 0kg/ha con un promedio de $3.3 \cdot 10^6$ unidades formadoras de colonias de bacterias fijadoras de nitrógeno. (Tabla 8).

Tabla 8. Prueba de comparación de medias de Tukey para suelos con distintas dosis de aplicación de fuentes fosfatadas a través de la cuantificación UFC para bacterias fijadoras de nitrógeno.

DOSIS	Medias		
50,00	$5.7 \cdot 10^6$	a	
25,00	$4.1 \cdot 10^6$	a	b
0,00	$3.3 \cdot 10^6$		b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Esto se debe a que tanto la proliferación de *Rhizobium* como la formación de nódulos, requieren presencia de fósforo, potasio, calcio, zinc, cobre y boro. La aplicación de fuentes fosfatadas favorecen el aumento en la cantidad de raíces y de nódulos (Abbasi et al., 2010), además provoca un aumento en la masa de los nódulos (Gunawardena et al., 1993) y también en el tamaño del nódulo (Kuang et al., 2005). Esto logra que al haber una mayor área de suelo en contacto con las raíces y una mejor nodulación crea un espacio ideal para que las colonias de bacterias fijadoras se establezcan y formen comunidades y comiencen con procesos de multiplicación y desarrollo microbiano.

Actinomicetos

El Análisis de Varianza para abundancia de Actinomicetos, indica diferencias altamente significativas para suelo a diferentes distancias respecto de la raíz, del mismo modo se evidencia diferencias significativas para dosis de aplicación. No se aprecia diferencias estadísticas para fuentes fosfatadas, interacción fuentes fosfatadas por dosis de aplicación, fuentes fosfatadas por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz, dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz y fuentes fosfatadas por dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz. (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de varianza para Abundancia de Actinomicetos del suelo en un Andisol sometido a diferentes dosis y fuentes fosfatadas.

F.V.	SC	gl	F	p-valor
Modelo	1,2*10 ²⁶	13	3,77	0,0030
BLOQUE	3,7*10 ²⁵	2	7,08	0,0042
FUENTE	4,8*10 ²³	1	0,18	0,6726
DOSIS	2,5*10 ²⁵	2	4,84*	0,0181
SUELO	5,8*10 ²⁵	1	22,26*	0,0001
FUENTE*DOSIS	3,2*10 ²³	2	0,06	0,9399
FUENTE*SUELO	2,0*10 ²²	1	0,01	0,9309
DOSIS*SUELO	7,0*10 ²⁴	2	1,33	0,2852
FUENTE*DOSIS*SUELO	64*10 ²⁴	2	1,2E-03	0,9988
Error	5,8*10 ²⁵	22		
Total	1,8*10²⁶	35		

*: diferencias significativas al 95% de confiabilidad

ns: no significativo

Según la prueba de comparación de medias de Tukey, la Dosis 50 kg/ha con un promedio de 3.8×10^6 UFC de Actinomicetos presento diferencias estadísticas significativas respecto al suelo no rizosférico con un promedio de 1.8×10^6 UFC de Actinomicetos (Tabla 10).

Tabla 10. Prueba de comparación de medias de Tukey para diferentes dosis de aplicación a través de la cuantificación UFC para actinomicetos.

DOSIS Medias

50,00	3.8×10^6	a	
25,00	2.3×10^6	a	b
0,00	1.8×10^6		b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Este comportamiento se debe a que la actividad microbiana depende del suministro de nutrientes adecuados entre ellos el fósforo (Thompson y Troeh, 1988). Produciéndose una relación directamente proporcional entre mayor disponibilidad de un elemento mayor unidades formadoras de colonias de actinomicetos. Se ha demostrado que muchos microorganismos del suelo como hongos y bacterias, incluyendo actinomicetos, pueden solubilizar iones fosfatos ($H_2PO_4^{4-}$, HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}) a partir de fuentes de fósforo orgánico e inorgánico de escasa solubilidad (Guerrero et al., 1996).

Según la prueba de comparación de medias de Tukey, el suelo rizosférico con un promedio de $3.9 \cdot 10^6$ UFC de Actinomicetos presento diferencias estadísticas significativas respecto al suelo no rizosférico con un promedio de $1.4 \cdot 10^6$ UFC de Actinomicetos. Se evidencia una relación inversamente proporcional a mayor distancia de la raíz menor cantidad de Actinomicetos (Tabla 11).

Tabla 11. Prueba de comparación de medias de Tukey para suelo a dos diferentes distancias respecto de la raíz, a través de la cuantificación de UFC para actinomicetos.

SUELO	Medias	
Rizosférico	$3.9 \cdot 10^6$	a
No Rizosférico	$1.4 \cdot 10^6$	b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p <= 0,05$)

La rizósfera región del suelo que rodea las raíces de las plantas, es significativamente diferente del resto del suelo. En esta existe un número considerablemente mayor de tipos específicos de microorganismos (Ingraham, 1998).

Los resultados obtenidos indican que las UFC de Actinomicetos es superior en el suelo rizosférico debido a que por la presencia de raíces va a presentarse una mayor aireación lo que creara condiciones para los actinomicetos debido a que estos son organismos aerobios según lo indica Wild (1989).

Algunas investigaciones mencionan el género *Streptomyces* descrito como colonizador de la rizósfera, capaz de ejercer biocontrol sobre hongos fitopatógenos, promover la nodulación y ayudar a los bacteriodes de *Rhizobium* en la fijación de nitrógeno en leguminosas como en este caso con *Lupinus mutabilis*, lo cual contribuye indirectamente a la promoción de crecimiento vegetal (Tokala et al. 2002). Este resultado nos permite tener en cuenta como se ven favorecidas las colonias de actinomicetos comunes en el suelo, especialmente, cerca de la rizósfera de una especie arbustiva fijadora de nitrógeno.

Respiración Del Suelo

El análisis de varianza para evaluación de la actividad microbiana a través de la respiración del suelo indica diferencias altamente significativas para fuentes fosfatadas, dosis de aplicación y suelo a distintas distancias respecto de la raíz, así mismo evidencia diferencias significativas para la interacción fuentes fosfatadas por dosis de aplicación. No se encontraron diferencias estadísticas para la interacción fuentes fosfatadas por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz, dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz y fuentes fosfatadas por dosis de aplicación por suelo a diferentes distancias respecto de la raíz (Tabla 12).

Tabla 12. Análisis de varianza para evaluación de la actividad microbiana, a través de la respiración del suelo y producción de CO₂ en un andisol sometido a diferentes dosis y fuentes fosfatadas.

F.V.	SC	gl	F	p-valor
Modelo	61,99	13	2068,77	<0,0001
BLOQUE	56,97	2	12358,70	<0,0001
FUENTE	0,03	1	14,49**	0,0010
DOSIS	0,38	2	82,59**	<0,0001
SUELO	4,56	1	1976,81**	<0,0001
FUENTE*DOSIS	0,02	2	4,32*	0,0262
FUENTE*SUELO	0,01	1	2,72 ^{ns}	0,1132
DOSIS*SUELO	0,01	2	2,44 ^{ns}	0,1101
FUENTE*DOSIS*SUELO	0,01	2	1,92 ^{ns}	0,1702
Error	0,05	22	2068,77	
Total	62,04	35		

** : altamente significativo al 99% de confiabilidad

* : diferencias significativas al 95% de confiabilidad

^{ns} : no significativo

Según la prueba de comparación de medias de Tukey, el suelo rizosférico con un promedio de 12,39 mg CO₂/10g de suelo presento diferencias estadísticas significativas respecto al suelo no rizosférico con un promedio de 11,68 mg CO₂/10g de suelo (Tabla 14).

Tabla 13. Prueba de Comparación de medias de Tukey para suelo a dos diferentes distancias respecto de la Raíz a través de la respiración del suelo y producción de CO₂

<u>SUELO</u>	<u>Medias</u>	
Rizosférico	12,39	a
No Rizosférico	11,68	b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Este comportamiento pudo haberse presentado, ya que la rizósfera tiene características bien diferentes al suelo distante de las raíces, pues es el lugar en donde hay mayor cantidad de nutrientes, tal como lo manifiesta el IGAC (1993), de igual manea, Delgado (2010), afirma que los microorganismos permanecen adheridos a las raíces de las plantas, ya que estas les suministran sustancias orgánicas que les sirven de alimento y estimulan su reproducción incrementando su metabolismo y con ello una mayor actividad microbiana.

También se puede apreciar que la producción de CO₂, se reduce entre más alejado del rizoplano de la planta está el volumen del suelo, debido a una menor influencia de la dinámica rizosférica como lo menciona Mora (2007) en su trabajo de doctorado de la Universidad Nacional.

Por otra parte, se dice que en la rizósfera ocurren procesos catabólicos y anabólicos en torno a materiales orgánicos e inorgánicos. El primer proceso proporciona moléculas simples, ATP, energía calórica y CO₂, gas que se utiliza como indicador de la actividad microbiana del suelo (AMS). El segundo acompleja e inmoviliza las moléculas simples en estructuras de los microorganismos, generando la biomasa microbiana del suelo (BMS) (Burbano, 1989; Cerri *et al.*, 1992; Siqueira *et al.*, 1994, Labrador, 1996; Sparling, 1997; Sánchez de P. *et al.*, 2000; Gómez, 2000).

La prueba de comparación de medias para fuentes fosfatadas por dosis de aplicación evidencia efectos de interacción, es decir que las fuentes afectan la respiración del suelo de manera diferencial a diversas dosis de aplicación de las fuentes. Es decir que Rafos con la dosis 50 kg/ha presenta diferencias estadísticas significativas con un promedio de 12,22 mg

CO₂/10g de suelo, frente a Rafos 0kg/ha con un promedio de 11,94 mg CO₂/10g de suelo y fosforita 0 kg/ha con un promedio de 11,87 mg CO₂/10g de suelo (Tabla 14).

Tabla 14. Prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción fuentes fosfatadas por dosis de aplicación, a través de la respiración del suelo y producción de CO₂

FUENTE	DOSIS	Medias	
Rafos	50,00	12,22	a
Fosforita	50,00	12,10	b
Rafos	25,00	12,03	b
Fosforita	25,00	12,03	b
Rafos	0,00	11,94	c
Fosforita	0,00	11,87	c

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Teniendo en cuenta que el trabajo fue realizado en un Andisol del Departamento de Nariño, en donde predomina la alófana, con una alta capacidad de fijación de fósforo, siendo esta una de las causas que implicó menor disponibilidad de fuentes energéticas para el metabolismo de los microorganismos y por ende el desprendimiento de CO₂, al no aplicar ninguna dosis de fertilizante, ya que las aplicaciones de fosforo favorecen la biota del suelo, como lo menciona Burbano (1989), quien encontró en uno de sus estudios realizados en suelos volcánicos del sur de Colombia, los cuales fueron tratados con fosforo y glucosa, con el fin de agregar un nutriente deficitario y aportar una fuente de energía y de carbono respectivamente, encontrando respuesta positiva por parte de los microorganismos a estos dos tratamientos, ya que la producción acumulada de CO₂, por espacio de tres semanas que duro la prueba de incubación, resulto mayor cuando el fosforo y la glucosa fueron adicionados.

En cuanto a las fuentes fosfatadas, el hecho de que el tratamiento al cual se le aplico 50kg/ha de Rafos presentara mayor cantidad de CO₂/g de suelo pudo haberse debido a que RAFOS es un fertilizante complejo cuya fórmula comercial es 12-24-12-2, que contiene una alta formulación de fósforo, balanceado con nitrógeno y potasio, altamente solubles, permitiendo que haya mayor fuente de energía para el crecimiento de la población

microbiana, dado que, los principales nutrientes para los microorganismos son carbón orgánico y nitrógeno, y la deficiencia en una de estas dos fuentes de nutrientes puede limitar el metabolismo y, por ende, la respiración, como lo menciona Alexander (1980). Se dice además, que los microorganismos contienen por lo general 5 a 10% de nitrógeno con base en el peso seco, el cual debe ser suministrado por la concentración de N existente en el suelo o el sustrato orgánico a descomponer (Smith et al., 1985; Anderson e Ingram, 1993; Brady, 1989; Siqueira et al., 1994).

Cervantes (2001), también dice que los procariotas requieren de fósforo para la síntesis de ácidos nucleicos, así como también requieren de otros nutrientes como el azufre, potasio, magnesio, calcio, sodio y hierro, así como también algunos micronutrientes como cromo, cobalto, cobre, manganeso, molibdeno, níquel, selenio, tungsteno, vanadio y zinc, los cuales tienen una función estructural en varias enzimas.

Lo anterior puede ser una explicación a lo que pasa con Fosforita Huila, fertilizante que presenta baja solubilidad y aunque contiene 28% de fósforo asimilable, en comparación con Rafos que contiene 24% de fósforo, Fosforita Huila no contiene en muy buena cantidad todos los elementos que los microorganismos requieren como fuente de energía para actividad microbiana, además Rafos es una fuente de alta solubilidad que puede haber influido.

CONCLUSIONES

La población bacteriana se presenta en mayor abundancia en el suelo rizosférico sin tener en cuenta la cantidad de fósforo aplicada, mientras que otras poblaciones microbianas como hongos, bacterias fijadoras de nitrógeno y actinomicetos, se presentan en mayor abundancia en el suelo rizosférico a medida en que se incrementa el fósforo.

La medida de la actividad microbiana, a través de la producción de CO₂, muestra que esta es mayor en el suelo rizosférico y a medida que se incrementan las dosis de Rafos.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales (VIPRI) de la Universidad de Nariño, por la financiación de este proyecto. Al Grupo de investigación Plan de Investigación para el Fortalecimiento Integral de las comunidades (PIFIL) de la Universidad de Nariño, por su apoyo en este proceso. Al SENA, por facilitarnos sus instalaciones para dar paso a la primera fase de esta investigación. A Jorge Vélez Lozano, I.AF. Msc. presidente de tesis por orientación y respaldo en el desarrollo de esta investigación. A Juan Carlos Delgado Ingeniero Químico, auxiliar laboratorio de Suelos de docencia, Patricia Betancourth Chávez, Médico Veterinaria y Carlos Alfredo Bernal, Zootecnista; auxiliares laboratorio ciencias pecuarias; por su orientación en el desarrollo de la fase de laboratorio.

Y a todas las personas que de una u otra forma colaboraron para la realización de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

Abbasi, M. K., Manzoor, M. and Tahir, M. M. Efficiency of rhizobium inoculation and P fertilization in enhancing nodulation, seed yield, and phosphorus use efficiency by field grown soybean under hilly region of Ramalakot Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. *J. Plant Nutr.* 2010. 33, 1080–1102.

Anderson J.M.; Ingram J.I.I. Tropical soil biology and fertility: A Handbook of methods. 2a. ed. CAB Internacional, 1993. P 68-70.

Azizah Chulan (Hashim) and P. Ragu. Groth response of *Theobroma cacao* L. seedlings to inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil.* 1986. 96: 279-285.

Bazin, M. J. A laboratory scale air-lift helical photobioreactor to increase biomass output rate of photosynthetic algal cultures. 1990. *New Phytology* 116: 331–335.

Bethlenfalvay, G.J. y R.G. Linderman, Mycorrhizae in sustainable agriculture. Wisconsin. Publication Number 54. 1992. p 45 – 70.

Bolan, N. S., Robson, A. D. and Barrow, N. J. Increasing phosphorus supply can increase the infection of plant roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 16, 419–420. 1984.

Bowen, G.D. y Rovira, A.D. The rizosphere and its management to improve plant growth. *Advances in Agronomy* 66: 1-102. 1999.

Brady, N. C.. *Natureza e propriedades dos solos*, Trad. Antônio B. Neiva Figueiredo Fº. 7º ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos. 1989. p 277-279.

Burbano, H. *Manual de laboratorio: Curso de bioquímica de suelos (versión preliminar)*. Bogotá: s.e, 1978.

Burbano H. *El suelo: Una visión sobre sus componentes biorgánicos*. 1ed. Pasto: Universidad de Nariño. 1989. p. 131-133

Cardoso, E. J. B. N.; Freitas, S. S. La rizósfera. En: *Sociedad Brasileira de la Ciencia do Solo. Microbiologia do solo*. Campinas. 1992. 41-57p.

Cerri, C. C.; Andreaux, F. e Eduardo, B. O ciclo do carbono no solo. pp 73-90. En: Cardoso, E.J.B.N.; Tsai, S.M. y Neves, 1992.

Cervantes and E. Velazquez. Phosphate-solubilizing bacteria as inoculants for agriculture: use of updated molecular techniques in their study. *Agronomie* 21: 561-568. 2001.

Garza, F. y Valdes, M. Tamaño de la Población Microbiana del Suelo y Desarrollo Inicial de *Desmanthus virgatus* (L.) Willd. Unidad Académica Multidisciplinaria Agronomía y Ciencias. Universidad Autonoma de Tamaulipas. México, D. F. 2000.

Glick, B.R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. microbial.* 41: 109-117. 1995.

Gómez, J. *La materia orgánica en los agroecosistemas*. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. 2000. 70 p.

Guerrero E.C.; Orozco A.; Rivillas C., Micorrizas: Recursos biológicos del suelo. Bogotá: Fondo Fen Colombia, 1996. p 56 – 57.

Gunawardena, S. F. B. N., Danso, S. K. A. AND Zapata, F. Phosphorus requirement and sources of nitrogen in three soybean (*Glycine max*) genotypes, Bragg, 382 and Chippewa. *Plant Soil* 151, 1–9. 1993.

INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI. Estudio general de suelos y zonificación de tierras. [CD – ROM]. IGAC, 2003.

Lynch, J. M. and Whipps, J. M. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant Soil* 129, 1–10. 1990.

Jones, A. M. Do we have the auxin receptor yet? *Physiol. Plant.* 80, 154–158. 1990.

Killian M., Steiner U., Krebs B., Junge H., Schmiedeknecht G. & Hain R FZB24 *Bacillus subtilis* Mode of Action of a Microbial Agent Enhancing Plant Vitality. *Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer*. 1: 72-93. . 2001.

Kuang, R. B., Liao, H., Yan, X. L. AND Dong, Y. S. Phosphorus and nitrogen interactions in field-grown soybean as related to genetic attributes of root morphological and nodular traits. *J. Int. Plant Biol.* 47, 549–559. 2005.

Labrador M., J. La materia orgánica en los agroecosistemas. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Mundi Prensa. 1996. p 57-65.

Lee k. E. & Pankhurst c. E. Soil organisms and sustainable productivity. *Australian Journal of Soil Research*, 30: 855-892. 1992.

Lynch J.M. *The rhizosphere*. Willey–Interscience, Chichester, Inglaterra. 1990.

Mayz, J. Simbiosis Leguminosas/Rizobia. Ediciones del Instituto de Investigaciones Agropecuarias IIAPUDO. Universidad de Oriente. Núcleo de Monagas. Maturín. Venezuela. 1997. 113 p.

- Mora, J. La actividad Microbiana: Un Indicador Integral de la Calidad del Suelo. Revista Lunazul. Universidad de caldas. ISBN: 1909-2474. Manizales. Colombia. 2007.
- Olalde, V.P., Aguilera, L.I. Microorganismos y Biodiversidad. Terra, Vol.16 No.3. 1998.
- Read, D. J. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47, 376–391. 1991.
- Reyes I. & Valery A. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento (*Zea mays* L.) con *Azotobacter* spp. *Bioagro*. 19: 117-126. 2007.
- Sánchez, M. Relación entre Características Químicas, Físicas y Microbiológicas de Varios Suelos del Valle del Cauca y su Efecto en el Crecimiento de Algunos Cultivos. Tesis Para Optar al Título de M.Sc. en Suelos y Aguas. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. 1990.156p.
- Sánchez de P., M.; Marmolejo de la T., F.; y Bravo, N. Microbiología. Aspectos Fundamentales. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. 2000.300 p.
- Siqueira, S.; Mureira, F.; Grisi, B.; Hungria, M.; Araújo, R. Microorganismos e procesos biológicos do solo. Brasília: Embrapa. 1994. 42 p.
- Singh, J.S. y Gupta, S.A. Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems. *The botanical review* 43 (1): 449-528. 1977.
- Smith, J.; Mcneal, B; Cheng, H. Estimation of soil microbial biomass: An analysis of the respiratory response of soil. *Soil Biol Biochem*. 17:11-16. 1985. Universidad de Nariño. Registros anuales granjas Botana y Chimangual. 2002.
- Souhie, E.L & de Souza Abboud, A.C. Phosphate solubilization by microorganisms the rhizosphere of Pigeon pea genotypes grown in different soil classes. *Seminario: Ciencias Agrarias, Londrina*, Vol 28 No 1, 2007. p 11-18.

Sparling, G.P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. P 97- 119. In: Pankhurst, C.E.; Doube, S. M. and Gupta, V. V. S. R. CAB International. Biological indicators of soil health. 1997. 451p.

Tokala K., C. Strap, D. Jung, et al. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Applied and Environmental Microbiology*. 68:2161–2171. 2002.

Thompson, L. M. Y Troeh, F. R., *Los suelos y su fertilidad*. Revert S.A. Barcelona. España, pp. 135-169. 1988.

Trujillo P y Rivera B. Identificación y cuantificación de la actividad microbiana, y Macro fauna de un andisol bajo diferentes sistemas de manejo, en El municipio de Marinilla (Antioquia). 2010. 26p.

Valencia E. & Peña J. J. *El suelo y sus habitantes microbianos: consideraciones ecológicas*. *Avance y Perspectiva*, 20: 401-406. 2001.

Wild, A. Plant nutrition in soil: nitrogen. In: *Russell's soil conditions and plant growth* [Book] (11th ed.). Longman Scientific & Technical, Essex, pp. 652-695. 1989.