



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**“Efecto de abonos verdes sobre la  
dinámica de hongos micorrizógenos  
(HMA) y bacterias nitrificantes en un ciclo  
de cultivo de maíz, *Zea mays* L”.**

**Andrés Felipe Vergara Gómez**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad De Ciencias Agropecuarias, Coordinación General De Postgrados  
Sede Palmira  
2013

**“Efecto de abonos verdes sobre la  
dinámica de hongos micorrizógenos  
(HMA) y bacterias nitrificantes en un ciclo  
de cultivo de maíz, *Zea mays* L”.**

**Andrés Felipe Vergara Gómez**

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de  
**Magíster en ciencias agrarias**

Directora  
(Ph.D.), Marina Sánchez de P.

Línea de Investigación en Suelos

Universidad Nacional De Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Coordinación General de Postgrados

Palmira, Colombia

2013



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE PALMIRA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS  
LINEA DE INVESTIGACIÓN SUELOS

En Palmira a los 06 días del mes de Diciembre de 2013, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los doctores NEWZA ASAKAWA y MANUEL SALVADOR SÁNCHEZ O.

Para calificar la Tesis de Grado de:

**ANDRES FELIPE VERGARA GÓMEZ**

Titulada:

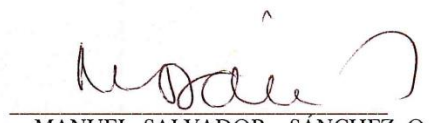
**“EFECTO DE ABONOS VERDES SOBRE LA DINAMICA DE HONGOS MICRORRIZOGENOS (HMA) Y BACTERIAS NITRIFICANTES EN UN CICLO DE CULTIVO DE MAIZ (*Zea Mays L.*)”** bajo la dirección de Marina Sánchez de Prager, PhD.

Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los investigadores NEWZA ASAKAWA y MANUEL SALVADOR SÁNCHEZ O., y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA   K  

REPROBADA     

  
NEWZA ASAKAWA

  
MANUEL SALVADOR SÁNCHEZ O.

**“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.**

*(Dedicatoria)*

*Al Dios todopoderoso por todas sus bendiciones y cuidados al orientar mi camino, y en su infinita sabiduría brindarme las oportunidades en el momento preciso, por permitirme tener vida, salud, fortaleza para superar las adversidades y mejorar cada día, por el cariño y la ayuda de personas buenas y por estar siempre presente cuando lo necesito.*

*A mi familia, especialmente a mi mamá María Antonia Gómez por todo su amor, compañía y confianza, por hacer posible que viviera para lograr mis metas e impulsarme hasta donde he llegado.*

# Agradecimientos

Deseo expresar mis sinceros agradecimientos a:

Colciencias y la Universidad Nacional de Colombia por su apoyo mediante la convocatoria nacional número 510 para el programa “Jóvenes Investigadores e Innovadores año 2010”. Donde se inició este trabajo.

A la doctora Marina Sánchez de Prager y a su grupo de investigación en “Agroecología” por su invaluable apoyo, colaboración y confianza.

Al Señor Adolfo Carvajal y su esposa Gladys Pomeo por toda su colaboración y asesoría para desarrollar esta investigación en su predio.

A mis compañeros de trabajo experimental Elida Marín, Samuel Molina y Leonardo Ordoñez, por compartir el proceso y su buena disposición para trabajar en equipo.

A mi amiga y colaboradora Sandra Milena Gómez por su apoyo incondicional en todo el proceso de campo y evaluaciones en laboratorio.

A mi colega y amigo José Miller gallego M.Sc. Por su amistad, toda su colaboración y asesorías.

A Francisco Vélez M.Sc. Por toda su colaboración y asesoría.

Al Doctor Octavio Mosquera director del Laboratorio de Análisis de Muestras Química de Suelos del CIAT. Por su ayuda oportuna en la parte de análisis de muestras.

A la doctora Neuza Asakawa del Laboratorio de Biología de Suelo del CIAT por su valiosa colaboración y apoyo.

Al profesor Francisco Sánchez por su oportuna colaboración en los análisis estadísticos.

A Nubia Rodríguez, Fernando Ramos y Alexandra García, de los laboratorios de Microbiología Vegetal, Microbiología Animal y Fitopatología por toda su ayuda para llevar

a cabo los procesos de evaluaciones y análisis de laboratorio correspondientes a este trabajo.

Al Doctor Saúl Antonio Ramírez director del departamento de hidrología de la Corporación autónoma regional del Valle del Cauca (CVC) Cali por la valiosa información sobre precipitación en la estación meteorológica San Emigdio, correspondiente a la zona donde se llevó a cabo esta investigación.

A mis amigos Elida patricia Marín, Oscar Sanclemente, Sharon Clavijo, Sandra Vivas, Diana Higueta, Gerson Ramírez, Alexandra García, Yamileth Chaguezá Diana Mora, Alejandro Jaramillo y Margarita Sarria por compartir el proceso y su apoyo.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira por la colaboración de personal calificado y por brindar instalaciones y equipos para realizar todas las pruebas necesarias en la elaboración de este trabajo, principalmente en los laboratorios de Microbiología Vegetal y Fitopatología.

Al ingeniero agrónomo Adolfo Arciniegas y a todas aquellas personas que directa e indirectamente participaron en el desarrollo y culminación de este trabajo.

## Resumen

En un *Humic dystrodepts* localizado en zona de ladera de Palmira (Valle del Cauca - Colombia), caracterizado por alto contenido de materia orgánica y manejo agroecológico por aproximadamente ocho años se sembró *Canavalia ensiformis* L. y *Axonopus scoparius* como abonos verdes, el cual se cortó, mezcló y adicionó al suelo en etapa de prefloración de la leguminosa. Cuatro semanas después se estableció el cultivo de maíz bajo cinco tratamientos y tres repeticiones: Testigo (T), fertilización química (FQ), abonos verdes (AV), compost (C) y AV más compost (AV + C), organizados en un diseño de bloques completos al azar. En tres épocas fenológicas del cultivo, como indicadores de cambios en el suelo, se evaluaron las dinámicas del nitrógeno como N total, N orgánico y N inorgánico ( $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ), la población de bacterias nitrificantes oxidantes de amonio y nitrito (BOA y BON) y, el transporte de P vía hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) a través de sus componentes colonización total (CT), micelio vivo y activo (MV) y longitud de micelio externo (ME). Las variables se estimaron mediante técnicas de espectrometría, colorimetría, número más probable de nitrificantes y tinción de micelio de HMA. En el agroecosistema los resultados presentaron diferencias altamente significativas entre épocas de muestreo y únicamente para MV de HMA a nivel de tratamientos.

Además de las relaciones entre los componentes internos ligados al ciclo del N ( $N_t$ ,  $N_{org}$ ,  $N_i$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ) y al P a través de los HMA (CT, MV y ME), se pudo comprobar la significativa relación entre la dinámica del N ( $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , BOA y BON) fracción disponible para las plantas, la dinámica del P que circula vía HMA (ME y MV) y condiciones ambientales como la precipitación. Estas relaciones evolutivamente están destinadas a traducirse en beneficios para el sistema suelo – planta, para el agroecosistema en particular y, en la economía de la naturaleza.

**Palabras Claves:** Abonos verdes (AV), materia orgánica, nitrógeno, bacterias nitrificantes micorriza arbuscular (HMA), maíz.



## Abstract

In *Humic Dystrudepts* hillside area located in Palmira (Valle del Cauca - Colombia), characterized by high content of organic matter and agro ecological management by about eight years *Canavalia ensiformis* L. and *Axonopus scoparius* as green manure, which was cut, mixed and added to the soil in pre-flowering stage of the legume. Four weeks later the maize crop was established under five treatments and three replications: Control (T), chemical fertilization (CF) green manure (GM), compost (C) and green manure plus compost (GM + C), organized in a randomized complete design blocks. In three phenological periods of cultivation, as indicators of soil changes, the dynamics of nitrogen were evaluated as total N, organic N and inorganic N ( $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$ ), the population of oxidizing nitrifying bacteria of ammonium and nitrite (BOA and BON) and, in the P transport via forming arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) through its full colonization components (CT), mycelium alive and active (MV) and external mycelium length (EM). The variables were estimated using spectrometric techniques, colorimetry, most probable number of nitrifying and HMA mycelium staining. In the agro ecosystem results were significantly different between sampling times and only for MV HMA to treatments level. In addition to the relationship between the internal components linked to the N cycle ( $\text{N}_t$ ,  $\text{N}_{\text{org}}$ ,  $\text{N}_i$ ,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$ ) and P through the HMA (CT, MV and ME), it was found the significant relationship between the dynamics of  $\text{N}_i$  ( $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$ , BOA and BON) fraction available to plants, the dynamics of P flowing via HMA (ME and MV) and environmental conditions such as precipitation. These relationships are evolutionarily designed to result in benefits to the soil-plant system, especially for the agricultural one and the economy of nature.

**Keywords:** Green manures (GM), organic matter, nitrogen, nitrifying bacteria, arbuscular mycorrhizal (AMF), corn.

# Contenido

	Pág.
Resumen.....	VIII
Lista de tablas .....	XIV
Lista de Figuras.....	XV
Introducción.....	1
Capítulo 1: Objetivos .....	5
1.1 OBJETIVO GENERAL .....	5
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
Capítulo 2: Marco Conceptual .....	6
1.3 LOS ABONOS VERDES .....	6
1.3.1 Características de los abonos verdes.....	8
1.3.2 Abonos verdes y el nitrógeno .....	11
1.3.3 Abonos verdes y bacterias nitrificantes .....	11
1.3.4 Abonos verdes y HMA.....	12
1.4 NITRÓGENO .....	12
1.4.1 Entradas de N a los agroecosistemas .....	15
1.4.1.1 Fijación del nitrógeno N <sub>2</sub> .....	15
1.4.1.2 Depositación del nitrógeno .....	16
1.4.2 Pérdidas del nitrógeno .....	17
1.4.2.1 Desnitrificación.....	17
1.4.2.2 Volatilización .....	18
1.4.2.3 Lixiviación.....	18
1.4.3 Transferencia .....	19
1.4.3.1 Mineralización .....	19
1.4.3.2 Asimilación .....	21

---

1.4.4	Bacterias Nitrificantes.....	21
1.4.4.1	Bacterias oxidantes de amonio (BOA) y bacterias oxidantes de nitrito (BON) .....	21
1.4.5	Características de BOA y BON .....	24
1.4.6	Parámetros que afectan a BOA y BON. ....	25
1.5	HONGOS FORMADORES DE MICORRIZA ARBUSCULAR (HMA) .....	26
1.5.1	Componentes de HMA .....	27
1.5.1.1	Colonización total (CT) .....	27
1.5.1.2	Micelio vivo y activo (MV) de HMA .....	28
1.5.1.3	Micelio externo (ME) de HMA .....	28
1.6	CULTIVO DEL MAÍZ.....	30
Capítulo 3: Materiales y Métodos .....		33
1.7	FASE DE CAMPO.....	33
1.7.1	Ubicación del Área Experimental .....	33
1.7.2	Caracterización de suelos objeto de estudio .....	35
1.7.3	Características Químicas del Suelo Evaluado .....	37
1.7.4	Establecimiento del Experimento .....	40
1.7.4.1	Abonos verdes empleados .....	42
1.7.4.2	Caracterización química del material vegetal utilizado como AV. ....	46
1.7.4.3	Caracterización química del compost utilizado .....	47
1.7.4.4	Siembra de maíz .....	48
1.7.4.5	Manejo agronómico de parcelas.....	49
1.7.4.6	Toma de muestras.....	50
1.8	FASE DE LABORATORIO: ANÁLISIS Y EVALUACIÓN DE MUESTRAS.....	51
1.8.1	Dinámica del N en el suelo estudiado .....	52
1.8.1.1	Tasa de Mineralización Neta de N.....	53
1.8.1.2	Tasa de Nitrificación Neta.....	54
1.8.2	Dinámica de Bacterias Nitrificantes .....	55
1.8.2.1	Aislamiento de Bacterias Nitrificantes.....	55
1.8.2.2	Presencia y cuantificación de bacterias nitrificantes .....	55
1.8.2.3	Metodologías para evaluar componentes de HMA .....	59

1.8.2.4	Porcentaje de Colonización Total (CT) por HMA .....	59
1.8.2.5	Tinción Vital de Micelio Vivo y Activo (MV) de HMA .....	59
1.8.2.6	Extracción y Cuantificación de Micelio Externo (ME) total de HMA.....	60
1.8.3	Análisis de información .....	64
Capítulo 4: Resultados y Discusión .....		65
1.9	DINÁMICA DEL N EN EL SUELO .....	65
1.9.1	Nitrógeno inorgánico $N_i$ ( $NH_4^+$ + $NO_3^-$ ) .....	65
1.9.2	Nitrógeno orgánico y total ( $N_{org}$ y $N_t$ ).....	68
1.9.3	Tasa de Mineralización Neta de N.....	71
1.9.4	Tasas de Mineralización Neta Puntuales de N. ....	72
1.10	DINÁMICA DE BACTERIAS NITRIFICANTES .....	77
1.10.1	Presencia y cuantificación de bacterias nitrificantes.....	77
1.10.2	Poblaciones de BOA y BON.....	78
1.11	DINÁMICA DE HMA .....	81
1.11.1	Colonización Total (CT) de HMA .....	81
1.11.2	Colonización por MV de HMA .....	85
1.11.3	Longitud de ME de HMA .....	88
1.11.3.1	Visibilización de ME en el Suelo.....	91
1.12	BIOMASA SECA DEL CULTIVO .....	93
1.13	ANÁLISIS DE CORRELACIONES. ....	94
Capítulo 5: Consideraciones finales .....		95
Conclusiones.....		99
A.	Anexo: Descripción del perfil de suelos finca “Las Flores” (Rubiano, 2010).....	100
B.	Anexo: Análisis químico del compost empleado en el ensayo. Proveedor: Elizabeth Martínez.....	102
C.	Anexo: Métodos empleados para evaluar algunas características químicas del suelo. ....	103
D.	Anexo: Preparación de medios de cultivo y aislamiento de bacterias nitrificantes del suelo.....	104
E.	Anexo: Tabla guía para cuantificar poblaciones de bacterias nitrificantes mediante software MPNes ®. ....	106

---

F.	Anexo: Cuantificación de porcentaje de colonización total (CT) de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA). .....	107
G.	Anexo: Protocolo para tinción y cuantificación de micelio vivo y activo (MV) de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA). .....	109
H.	Anexo: Protocolo para extraer y cuantificar micelio externo (ME) de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA). .....	110
I.	Anexo: Resumen de análisis de varianza para variables evaluadas. ....	113
J.	Anexo: Correlaciones para variables evaluadas .....	119
	Bibliografía .....	120

## Lista de tablas

	<b>pág.</b>
Tabla 1. Descripción de géneros y características de las bacterias nitrificantes BOA y BON.....	23
Tabla 2. Características de <i>Nitrosomonas</i> y <i>Nitrobacter</i> .....	24
Tabla 3. Características químicas del suelo Finca “Las Flores” (Pre-establecimiento de los AV). .....	39
Tabla 4. Composición nutricional de <i>A. scoparius</i> y <i>C. ensiformis</i> a los 70 días después de siembra. ....	46
Tabla 5 Composición nutricional del compost empleado como abono orgánico ..	47
Tabla 6. Plan de fertilización para los respectivos tratamientos. ....	49
Tabla 7. Muestreo efectuado de acuerdo con las variables evaluadas. ....	50
Tabla 8. Metodologías aplicadas para el análisis y evaluación de variables propuestas en el ensayo.....	51

## Lista de Figuras

	<b>pág.</b>
Figura 1. Esquema representativo del ciclo del nitrógeno.....	14
Figura 2. Nitrificación por actividad oxidativa de bacterias nitrificantes (BON y BOA) a partir de $\text{NH}_4^+$ .....	22
Figura 3. Mecanismo de captación, translocación y transporte del fósforo por ME de HMA.....	29
Figura 4. Ubicación geoespacial de la finca “Las Flores”. Imagen satélite LANDSAT 7EM.....	34
Figura 5. Perfil característico del <i>Humic Dystrupets</i> en la finca “Las Flores”. .....	36
Figura 6. Distribución espacial de los tratamientos en los bloques experimentales. ....	41
Figura 7. Distribución de los AV en las parcelas experimentales.....	43
Figura 8. (A) AV establecidos en las parcelas experimentales; (B) <i>A. scoparius</i> y <i>C. ensiformis</i> , cortados y pesados; (C, D) adición de AV en las parcelas correspondientes. ....	45
Figura 9. Secuencia parcial de procesos para aislamiento y cuantificación de bacterias nitrificantes: (A) recolección de suelo <i>in situ</i> ; (B) tamizaje y peso por tratamientos; (C y D) frascos dilutores con solución buffer fosfato para diluciones seriales $10^{-1}$ a $10^{-5}$ ; (E y F) medios selectivos de cultivo para BOA y BON. ....	57

- Figura 10. Técnica de NMP. (G, H) aislamiento e incubación de BOA y BON; (I) aislamientos previos a pruebas indicadoras diazo y nitrato; (J) reactivos diazo, acoplante y colorante nitrato; (K) presencia de BOA y BON; (L) software MPNes® para cuantificación de bacterias nitrificantes. .... 58
- Figura 11. CT de HMA. Pasos representativos de la técnica de tinción con tinta en vinagre: (A). recolección y almacenamiento de raíces; (B, C, D) reactivo KOH y clareamiento de raíces; (E) tinción con tinta Sheaffer; (F) raíces teñidas y codificadas para conteos. .... 61
- Figura 12. Algunas etapas de la técnica de tinción de MV con fuscina ácida: (A, B) recolección de raíces; (C, D) incubación de raíces en oscuridad; (E, F) tinción de raíces y montaje de placas. .... 62
- Figura 13. Pasos para la técnica de tinción de ME: (A) preparación de suelo; (B, C, D) dispersión del suelo para extraer ME; (E) tinción y filtración al vacío de micelio; (F) Filtro millipore de 1.2 micras con micelio teñido previo a la observación con objetivo 20x..... 63
- Figura 14. Concentración de  $N_i$  ( $NH_4^+ + NO_3^-$ ) en tres épocas de evaluación del cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .... 66
- Figura 15. Relación entre precipitación y contenidos de  $N_i$  ( $NH_4^+ + NO_3^-$ ) en tres épocas de evaluación del cultivo de maíz..... 67
- Figura 16. Concentración de  $N_i$  ( $NH_4^+ + NO_3^-$ ) en los tratamientos evaluados durante el ciclo de cultivo de maíz. .... 68
- Figura 17. Concentración de  $N_{org}$  y  $N_t$  en tres épocas de evaluación del ciclo de cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .... 69
- Figura 18. Concentración de  $N_{org}$  y  $N_t$  entre épocas de evaluación del ciclo de cultivo de maíz..... 70



---

Figura 19. Tasa de mineralización neta total de N en los tratamientos durante el ciclo de cultivo de maíz.....	71
Figura 20. Tasas de mineralización neta puntuales entre muestreos. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....	73
Figura 21. Tasas promedio de mineralización neta puntuales en los tratamientos durante el ciclo de cultivo de maíz.....	75
Figura 22. Tasas de nitrificación neta en los tratamientos evaluados durante el ciclo de cultivo de maíz.....	76
Figura 23. Detección mediante colorimetría de la presencia de BOA (violeta) y BON (azul) en el suelo estudiado. ....	77
Figura 24. Poblaciones de bacterias nitrificantes (BOA y BON) estimadas en tres épocas del cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....	78
Figura 25. Poblaciones de bacterias nitrificantes (BOA y BON) halladas en los tratamientos evaluados en maíz. ....	80
Figura 26. Porcentaje de CT por HMA alcanzados en las épocas de evaluación del cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....	81
Figura 27. Porcentaje de CT por HMA alcanzados en los diferentes tratamientos en el cultivo de maíz. ....	82
Figura 28. Estructuras de HMA observadas en CT. (A, B, C) micelio tipo <i>Arum</i> en raíz de maíz con tinción de Vierheiling <i>et al.</i> , (1998); (D) arbúsculo; (E) vesícula; (F) micelio tipo <i>Paris</i> . .....	84

---

Figura 29. Porcentaje de MV de HMA entre épocas de evaluación del cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). .....	85
Figura 30. Estructuras de HMA en raíces de maíz participando en la toma activa de fósforo (A, B) micelio externo; (C, D) micelio <i>Paris</i> y <i>Arum</i> ; (E, F) arbusculos. ....	86
Figura 31. Porcentaje de MV de HMA en los tratamientos durante el ciclo de cultivo de maíz. ....	87
Figura 32. Longitud de ME en tres épocas de evaluación del cultivo de maíz. ....	88
Figura 33. Relación longitud de ME y precipitación acumulada en tres épocas de evaluación del cultivo de maíz. ....	89
Figura 34. Longitud de ME de HMA en los tratamientos evaluados durante el ciclo de cultivo de maíz. ....	90
Figura 35. (A y D) cuantificación de longitud de ME según técnica de Miller y Jastrow (1992); (B y C) ME participando en la formación de microagregados del suelo. ....	92
Figura 36. Biomasa seca (ton/ha) producida en los tratamientos evaluados durante el ciclo de cultivo del maíz. ....	93

# Introducción

La avidez de explotar económicamente los suelos, la continua dependencia de agroquímicos y el manejo inadecuado de este, han forjado diversos impactos nocivos en los agroecosistemas, los cuales repercuten en los componentes socioeconómicos, ambientales y culturales.

La ejecución de diversas prácticas productivas promueven elevados incrementos en la demanda de insumos como los fertilizantes de síntesis química; según las cifras de la International Fertilizer Industry Association (IFA, 2010), el aumento de la producción agrícola mundial está incrementando de forma rápida y progresiva la demanda de fertilizantes, lo cual se corrobora con las cifras registradas durante los años 2007 - 2008 y 2008 - 2009, tiempo en el cual la demanda mundial de fertilizantes aumentó en 3,9% y 3,2% respectivamente, alcanzando un consumo total de 170,3 y 175,8 millones de toneladas durante los años mencionados. Los mayores cambios en volúmenes se produjeron en América del Norte, Asia meridional, Asia y Europa occidental y central. En Colombia, el uso de fertilizantes fosfatados ha mantenido un incremento constante, pasando de 58800 toneladas en 1961, a 143000 toneladas en el 2004 (IFA, 2010).

Según FAO (2011), la producción mundial de fertilizantes nitrogenados se aproximó a 158.9 millones de Toneladas en el año 2010. En muchos países industrializados sobrepasan los niveles de consumo de fertilizantes sintéticos y un 68% fue consumido en los países del continente Asiático (India, China y Pakistán los primeros consumidores, respectivamente), el 18% en América, el 10% en Europa, el 3% en África y 1% en Oceanía.

FAO (2010), reporta que el 20% del área de suelos cultivables en el mundo se encuentran degradados. Según FAO (2012), el proceso de degradación del suelo está estrechamente relacionado con las prácticas agrícolas empleadas para satisfacer las demandas productivas.

Este contexto sobre el manejo del suelo de los agroecosistemas, los métodos intensivos de producción y el deterioro paulatino del suelo a nivel mundial ha conllevado a la reflexión sobre la creciente necesidad de una agricultura ecológica, limpia y sostenible. Esta situación ha impulsado y fortalecido el uso de tecnologías de conservación de recursos, que minimicen el deterioro del suelo y permitan la restitución de la fertilidad perdida, mediante criterios como el aprovechamiento potencial de la materia orgánica del suelo (MOS), a modo de estrategia que contribuya favorablemente a la conservación de algunas de las propiedades biológicas, químicas y físicas del suelo sensibles a cambios a corto y mediano plazo,

Una de estas tecnologías de conservación tiene como base el uso de abonos verdes (AV), con el fin de mejorar las condiciones de uso del suelo, a la vez que lo acoge como el mejor aliado de las actividades agrícolas.

Los abonos verdes cobran cada día más interés como alternativa de incremento y conservación de la fertilidad de los suelos, sobre todo en las condiciones de los trópicos. Esta práctica ha mostrado ser eficiente en la sustitución de fertilizantes nitrogenados y en el incremento de la productividad de los cultivos (García *et al.*, 2002).

Numerosas investigaciones sobre AV se han centrado en el estudio de cambios que ocasionan en las propiedades químicas, especialmente en la disponibilidad de nutrientes, y en menor escala en propiedades físicas y biológicas de los suelos.

Estas investigaciones han comprobado que el uso de los AV incide en forma positiva en propiedades ligadas a disponibilidad y almacenamiento de nutrientes, conservación de la materia orgánica del suelo (MOS), estructura y bioestructura, almacenamiento y movimiento de agua en el suelo, regulación de la temperatura del agro-ecosistema, control de arvenses y en la incidencia en ciclos de insectos y microorganismos que pueden afectar negativamente y/o positivamente la sanidad de los agroecosistemas (Costa *et al.*, 1992; USDA 1996; FAO, 2000; CIDICCO, 2003; FAO, 2011).

Con el cultivo de abonos verdes, se incorpora nitrógeno atmosférico al suelo y cuando se siembran cultivos asociados, la diversidad de especies cultivadas se incrementa. La eficiencia del uso de la tierra es en general mayor en los cultivos asociados que en los monocultivos (Martín y Rivera, 2007; Martín *et al.*, 2009).

Según Clark (2007), los AV juegan un papel fundamental en el ciclo del N en el suelo. Las bacterias del suelo descomponen los AV, los cuales contienen azúcares simples y proteínas que son utilizados por dichas bacterias como fuente de energía. Ante esta oferta de alimento, las bacterias se multiplican rápidamente llegando a doblar su población inicial en apenas 7 días bajo condiciones de campo. De este modo, suelos degradados o con poca actividad biológica pueden tornarse muy activos biológicamente hablando. El resultado final de la adición de los AV a un suelo, es una muy rápida y considerable liberación de nitratos una semana después de la incorporación de estos AV.

También Cobo *et al.*, (2002), opinan algo semejante. Ellos expresan que luego de la incorporación de los AV, los mayores picos de liberación de nitrógeno amoniacal en el suelo se presentan a las 2 semanas, mientras que los picos más altos de liberación de nitrógeno nítrico se presentan a las 4 semanas. Estos investigadores afirman que se debe manejar adecuadamente las relaciones C/N, el tipo de especie vegetal del AV y el tipo de cultivo principal utilizado, para que el cultivo pueda tomar este nitrógeno en el momento exacto en que los AV lo están aportando, y de esta forma evitar pérdidas de este elemento en el sistema suelo.

Sanclemente (2009), al evaluar las diferencias de rendimiento en un cultivo de maíz cuando fue fertilizado con AV, con fertilización química, con fertilización orgánica y con una mezcla de las tres encontró que los AV lograron incrementar entre un 31% y 71% los contenidos de nitrógeno total en los suelo en comparación con las parcelas testigos en donde no se incorporaron AV. El autor encontró incrementos en la concentración de nitrógeno inorgánico y los contenidos de humedad del suelo, sin embargo, los tratamientos en los cuales se incorporaron de forma única los AV, presentaron una mayor incidencia de arvenses acompañantes del cultivo del maíz.

En la actualidad, además de las relación simbiótica destinada a la fijación de N<sub>2</sub>, cuando se eligen los AV se considera que sean afines a los hongos que forman micorriza arbuscular (HMA) dado el papel que cumplen en la absorción de fósforo y otras funciones como el abastecimiento de otros nutrientes al cultivo, de agua, protección contra patógenos, almacenamiento de carbono, mejoramiento de la estructura del suelo, entre otros, que ha llevado a que se incluya el estudio de la MA dentro de programas de uso de AV (Brundrett *et al.*, 1996; Rivera *et al.*, 2003, citado por Martín *et al.*, 2007; Sánchez de P., 2007; Velásquez y Sánchez de P., 2008).

# Capítulo 1: Objetivos

## 1.1 Objetivo General

Estimar y evaluar el efecto de la adición de abonos verdes (AV) sobre algunas características relacionadas con la dinámica del nitrógeno y del fósforo en un suelo sembrado con maíz, *Zea mays* L., en zona de ladera del Municipio de Palmira.

## 1.2 Objetivos Específicos

- Estimar el efecto de dos abonos verdes sobre la mineralización del nitrógeno y la dinámica de bacterias nitrificantes
- Evaluar la influencia de la adición de AV al suelo, sobre algunas variables biológicas como: colonización micorrizal y micelio externo de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA).

# Capítulo 2: Marco Conceptual

## 1.3 Los abonos verdes

Los abonos verdes (AV) son plantas o cultivos forrajeros que se siembran en rotación o asocio con un cultivo comercial, los cuales son incorporados al suelo mientras están verdes o en la época de floración, con el fin de mejorarlo al mantener y restaurar sus propiedades físicas, químicas y biológicas. En algunas ocasiones estos cultivos puede ser utilizados como alimento pecuario o humano, o ser cortados para predisponer el suelo a la siembra de un cultivo perenne principal” (Costa *et al.*, 1992; Litterick *et al.*, 2004).

Autores como Cobo *et al.*, (2002); Sangakkara *et al.*, (2004); Clark, (2007) y Prager *et al.*, (2012), entre otros, han comprobado que el uso de AV en diferentes sistemas agrícolas productivos incrementan la calidad del suelo y mantienen el potencial productivo, optimizando las propiedades físicas como: estructura, densidad aparente, capacidad de retención de agua, regulación de la temperatura y humedad que se reflejan en el ambiente subterráneo y aéreo, entre otras; propiedades químicas como: disponibilidad de nutrientes, entre ellos P y N, CIC, MO, etc. y propiedades biológicas, al albergar diferentes organismos del suelo entre ellos hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA).

Investigaciones en AV señalan que estos materiales pueden sustituir en gran parte la fertilización de síntesis industrial en los cultivos sin que se afecten sus rendimientos, en la medida en que los AV mejoran algunas propiedades emergentes del suelo de tipo físico - químico y biológico importantes para su conservación y la del ambiente (Prager *et al.*, 2002; Martín *et al.*, 2009).



La incorporación de AV se considera una práctica fundamental en manejo y conservación de suelos, mediante la reducción de los procesos de erosión e influir sobre componentes importantes tales como la materia orgánica, retención de agua y nutrientes del suelo a través de los sistemas radicales de las plantas utilizadas, disminuir las pérdidas por nitrificación y desnitrificación, almacenamiento de agua dentro del material orgánico, menores consumos de agua por los cultivos, bajas tasas de respiración (C-CO<sub>2</sub>) del agroecosistema, entre otros beneficios (Labrador, 2001; Prager *et al.*, 2002; Litterick *et al.*, 2004; Mosavi *et al.*, 2009; FAO , 2011; Martínez *et al.*, 2012).

Dentro de las propiedades emergentes del suelo favorecidas por la adición de AV, se pueden señalar la fertilidad, sanidad, resiliencia y calidad del suelo, como resultado de alternativas ligadas a procesos de prevención y conservación de las cualidades de los suelos (Sánchez de P., *et al.*, 2007).

Entre los tipos de plantas empleadas como AV se destacan las gramíneas y las leguminosas; debido a que las leguminosas propician eficientemente la fijación biológica de N<sub>2</sub> y el aporte de materia orgánica fresca en la relación C/N, favoreciendo el desarrollo de la actividad biológica en el suelo y contribuyendo a su fertilidad (Tejada *et al.*, 2008; Vélez, 2012). Las gramíneas cultivadas como AV, a través de su sistema radical estimulan la aireación y la agregación del suelo, mejorando su calidad. Estas plantas tienen la cualidad de usar las reservas minerales del suelo con mayor eficiencia que la mayoría de las plantas gracias a la longitud de su sistema radical (Sociedad de agricultores de Chile, 2012).

Según CIDICCO (2003), las especies leguminosas más habituales como cultivos de cobertura o AV son: *Canavalia ensiformis*, con registros aproximados de fijación de 231 Kg de N<sub>2</sub> /ha; *Mucuna* spp (152 Kg/ha), *Cajanus cajan* (229 Kg/ha), *Pueraria* (116 Kg /ha). Igualmente se ha registrado *Crotalaria*, *Dolichos lablab*, *Vicia faba*, *Phaseolus coccineus* en regiones de México, Centroamérica y Suramérica. En regiones altas de países como Ecuador, Colombia, Bolivia y Perú, se siembran alfalfa (*Medicago sativa*), trébol rojo (*Trifolium pratense*), tréboles dulces (*Melilotus sp*) y, en zonas cálidas,

fríjol de vaca (*Vigna sinensis*), fríjol terciopelo (*Stizolobium deeringianum*), *Crotalaria juncea*, *Pueraria phaseoloides*, añil rastrero. (*Indigofera* sp), lupino (*Lupinus* sp).

En general, las gramíneas más frecuentes como AV son: Centeno (*Secale cereale*), sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), *Pennisetum glaucum* L. y mezclas de pastos (Gómez, 2000; Prager *et al.*, 2002; Mosavi *et al.*, 2009; FAO, 2010).

### 1.3.1 Características de los abonos verdes

Los AV pueden agregar al suelo hasta 50 ton/ha de biomasa fresca en cada aplicación, lo cual conlleva a una serie de efectos positivos sobre el suelo, tales como optimizar su capacidad de retener agua, modificar el pH y variaciones extremas de temperatura, proteger la capa superficial del suelo contra el golpe directo de las gotas de lluvia, aumentar la capacidad de reacción del suelo contra la sequía, erosión hídrica y eólica, equilibrar el contenido y disponibilidad de nutrientes, entre otras bondades de estos materiales (Bunch, 1994; FAO, 2010).

Los AV aportan de forma continua materia orgánica fresca y un substrato carbonado, que se constituyen en las principales fuentes de energía para toda forma de vida en el suelo, estimulando así su funcionamiento biológico y su nivel poblacional mediante la activación del ciclo de muchas especies de macro y microorganismos. Además, muchos de los ciclos de algunos insectos y patógenos microbianos pueden alterarse o interrumpirse por efecto de los AV, su crecimiento y descomposición (Sánchez de P, 2008; FAO, 2010).

Otro valor agregado de los AV son los canales que dejan en el suelo la descomposición de las raíces, ya que estos abonos influyen favorablemente sobre la capacidad de infiltración de los suelos en donde se cultivan, gracias al efecto combinado del sistema radical y de la cobertura vegetal, la cual evita la desagregación y el sellado de la superficie del suelo, reduciendo la velocidad de la escorrentía (Sánchez de P., *et al.*, 2007).

La producción y aplicación de AV y materia orgánica en los mismos campos agrícolas, proporciona a los agricultores fortalezas competitivas, minimizando gastos de transporte

para dichos suministros (Prager *et al.*, 2002). También promueven la reducción de los costos de riego gracias a propiedades que favorecen la reserva de agua en el suelo. (Madero *et al.*, 2003). Sumado a esto, el uso de AV estimula favorablemente la reducción de la lixiviación de nutrientes y prolongan moderadamente su acopio para el siguiente cultivo, gracias a estas condiciones algunos investigadores los denominan “Cultivos atrapadores o Catch crops” (Sullivan, 2003).

La asociación estratégica de las especies empleadas como AV optimiza el aprovechamiento de familias de plantas herbáceas con capacidad de proporcionar cobertura al suelo, poseer distintas relaciones de C/N y contenidos de lignina, además de ser propicios para incorporar al suelo y suministrar los nutrientes en periodos de tiempo relativamente cortos (FAO, 2010; Vélez, 2012).

Los AV tienen una rápida producción y disponibilidad de biomasa radial y aérea, convirtiéndose en fuente ideal de nutrientes, a la vez que promueven la actividad rizosférica del suelo, ya que las raíces de algunos de estos abonos o cultivos de cobertura son capaces de reducir la compactación del subsuelo al romper las capas compactadas del suelo. Los diferentes sistemas de raíces de plantas como el de *Cajanus cajan* (fríjol de año) exploran e impactan diversas profundidades del suelo, mediante una acción de biotaladración y tienen la capacidad de extraer distintas cantidades de nutrientes; además de producir varios exudados radicales (ácidos orgánicos), que favorecen al suelo, microorganismos, y posteriores cultivos (Astier *et al.*, 2006; Sánchez de P., *et al.*, 2008; FAO, 2010). Además de mejorar la estructura del suelo, los AV dificultan el desarrollo y competencia de las arvenses (Prager *et al.*, 2002; Molina, 2012), y al emplear estos se busca minimizar costos derivados de los controles requeridos para dicha vegetación (FAO, 2010; Vélez, 2012).

Los AV estimulan la actividad biológica en el suelo de los agroecosistemas, al proveer sustratos para los múltiples procesos metabólicos de macro, meso y microorganismos, como los rizobios, beneficiando el ciclaje de nutrientes y la fijación biológica de N<sub>2</sub> atmosférico y liberación de importantes cantidades del nutriente al suelo, especialmente

cuando estos abonos adicionados o incorporados incluyen leguminosas (Zapata *et al.*, 2002; Sánchez de P., *et al.*, 2003; Clark, 2007; Tejada *et al.*, 2008; Guzmán y Mielgo, 2008; Dhima *et al.*, 2009), contribuyendo así al aumento de la concentración de elementos esenciales, y por ende al mejoramiento de la oferta nutricional del suelo, que se traduce en menores costos de fertilización de síntesis química industrial (Gómez, 2000).

*Canavalia ensiformis* L es idónea como AV debido a la practicidad de su cultivo, profuso crecimiento, habilidad para competir con la vegetación espontánea, capacidad de disminuir la erosión y aportar fitomasa y nutrientes al suelo. Además esta especie tiene una alta capacidad fijadora de N, que oscila entre 140 y 160 Kg ha<sup>-1</sup> (Martin *et al.*, 2007). El autor señala que bajo las condiciones de Cuba, esta especie de AV se destaca por hacer un aporte al sistema superior a los 100 Kg de N ha<sup>-1</sup>. Afirmación que coincide con los registros de fijación mencionados anteriormente.

*Axonopus scoparius* (Flüggé) Kuhlman es una especie utilizada generalmente como hierba para ensilaje y como forraje verde, es de tipo perenne, forma grandes macollas de 1 a 1.5 metros de altura, posee hojas anchas pubescentes y de punta roma. Aunque prefiere suelos bien drenados, tiene la ventaja de crecer en forma óptima en zonas de elevada precipitación, tolerar la sequía en suelos profundos y variaciones de temperatura (Baligar y Fageria, 2007).

Núñez *et al.*, (2010) enfocaron sus estudios para ampliar la información sobre las bondades de usar diferentes especies de AV en el sistema suelo - planta y sus propiedades a partir de cinco especies de AV en dos ciclos de cultivo de arroz bajo condiciones de la costa norte colombiana. Los autores evaluaron algunas propiedades físicas, químicas y biológicas en los suelos, así como la incidencia de arvenses en ambos ciclos y el rendimiento del cultivo. No encontraron indicios de cambio en las propiedades físicas y químicas evaluadas. Sin embargo, a nivel biológico descubrieron un incremento gradual de las poblaciones de hongos benéficos y bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> en los tratamientos con AV. Este tipo de resultados se convierten en un aliciente para implementar y potencializar el cultivo de AV como una alternativa sencilla y práctica para la conservación del suelo y los agroecosistemas.

### 1.3.2 Abonos verdes y el nitrógeno

Los AV, especialmente las especies leguminosas, suministran cantidades importantes de N a los suelos de los agroecosistemas. Son considerados como una estrategia útil para disminuir la utilización de fertilizantes de síntesis industrial que aporten este nutriente Tejada *et al.*, (2008).

Luego de la incorporación de los AV, la mayor liberación de  $\text{NH}_4^+$  en el suelo se presenta a las 2 semanas, mientras que las de  $\text{NO}_3^-$  se presentan a las 4 semanas. Debido a esta característica deben emplearse adecuadamente las relaciones C/N, el tipo de AV y el cultivo principal a utilizar, para que este pueda extraer N de forma acoplada con los periodos de mayor demanda nutricional, y de esta forma evitar pérdidas en el sistema suelo - planta. (Cobo *et al.*, 2002; Clark 2007; Gallego, 2012).

### 1.3.3 Abonos verdes y bacterias nitrificantes

Según Salamanca (2003), los AV además de incrementar la materia orgánica del suelo, estimulan la actividad de hongos, actinomicetos y bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias nitrificantes. Según Mcneill y Unkovich (2007), en los primeros 5 cm de profundidad del suelo gracias a la difusión del oxígeno se realiza de forma más eficiente el proceso de mineralización, ya que esta superficie es la capa biológicamente más activa del suelo.

Clark (2007), afirma que los AV juegan papel fundamental en el ciclo del N en el suelo. Las bacterias del suelo descomponen estos materiales, los cuales contienen azúcares simples y proteínas que son utilizados como fuente de energía. Ante esta oferta de alimento, las bacterias se multiplican rápidamente llegando a doblar su población inicial en apenas siete días bajo condiciones de campo. De este modo, suelos degradados o con poca actividad biológica pueden tornarse muy activos. De acuerdo con el autor el resultado final de la adición de los AV a un suelo, es una veloz y alta liberación de

nitratos una semana después de la incorporación, a través del metabolismo de las bacterias nitrificantes.

Stark *et al.*, (2008), también resalta la importancia de las comunidades microbianas del suelo en los procesos de descomposición de materiales orgánicos y por ende en el mantenimiento de la fertilidad y productividad de los suelos.

### **1.3.4 Abonos verdes y HMA**

La inserción de AV en la rotación de cultivos garantiza el balance positivo de la simbiosis micorrízica en estos, al incrementar el flujo y la absorción de nutrientes y agua, mejorando los rendimientos al integrarse estos microorganismos al manejo del sistema suelo - planta, consolidando una relación tripartita que se verá reflejada en el mejoramiento del suelo y el cultivo y relaciones con otros microorganismos. (Martín y Rivera, 2007; Rivera *et al.*, 2008).

Aprovechando las múltiples ventajas de los AV, cuando estos se eligen se busca una posible compatibilidad con HMA, debido a su habilidad para colonizar una amplia gama de especies vegetales, además del papel que cumplen en el transporte de P y otros nutrientes al cultivo, entre otras cualidades que los hacen componentes determinantes para investigaciones relacionadas con conservación del suelo y mejoramiento de la actividad agrícola en los agroecosistemas (Brundrett *et al.*, 1996; Martín y Rivera, 2007; Martín *et al.*, 2007 y Vélez, 2012).

## **1.4 Nitrógeno**

El nitrógeno es uno de los nutrientes más importantes para la vida; después del carbono y el oxígeno, es el elemento más abundante en la biomasa de las plantas, con valores de 10 a 30 g por kilogramo de tejido vegetal. Es componente imprescindible de biomoléculas como aminoácidos, ácidos nucleídos y clorofila en las plantas y en el suelo es el nutriente tomado en mayor cantidad por las plantas, después del C (Mcneill, Ann y Unkovich, 2007; Stavros *et al.*, 2012).

Habitualmente, en todo suelo el N se encuentra en forma orgánica e inorgánica y cerca del 98% del N terrestre se encuentra en tierra sólida, dentro de la estructura química de rocas, tierra y sedimentos. El 78% de la atmósfera terrestre está constituida por N molecular ( $N_2$ ) y trazas de óxidos de N, vapor de ácido nítrico, amoníaco gaseoso, compuestos de  $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$ , y N orgánico (Kelter, 2001; Douxchamps, 2011).

Orozco (1999), afirma que las formas inorgánicas de N oscilan entre el 8 y 10% en el suelo y las orgánicas están entre el 90 y 92% de este elemento. Las respuestas fisiológicas expresadas por las plantas ante la disponibilidad del N en el suelo han sido ampliamente investigadas, señalando que el N es imprescindible para el uso de los carbohidratos por parte de las plantas. El metabolismo del N es el principal factor en el crecimiento vegetativo de hojas y tallos, y el estudio del ciclo de este elemento en el suelo se ha convertido en un componente importante de la ecología y biogeoquímica de los ecosistemas (Rao, 2009; Gallego, 2012).

Dada su importancia en el metabolismo de vegetales para el crecimiento de hojas y tallos, el N proteico constituye la fracción más grande en las plantas y oscila entre el 80% y 85% del N total. El 10% está en los ácidos nucleicos y el 5% restante se encuentra en los grupos amino - solubles. Las proteínas conformadas se destinan para los cloroplastos, mitocondrias y otras estructuras en las cuales suceden la mayoría de las reacciones químicas de la planta. (Rao, 2009).

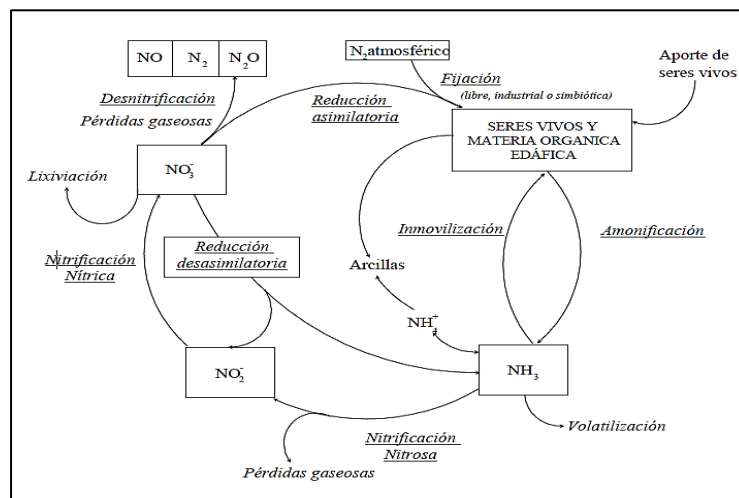
Mcneill, Ann y Unkovich (2007), afirman que el ciclo del N comprende reservorios representados por plantas, animales y el suelo, los cuales contienen cantidades relativamente pequeñas de N biológicamente activo, en comparación con los grandes reservorios de N inorgánico presentes en la litosfera y la atmósfera. El curso de este elemento se presenta continuamente en los ecosistemas a través de estos depósitos; mediante adiciones o entradas y por medio de remociones o pérdidas de este elemento en los ecosistemas involucrados.

Entre los ciclos biogeoquímicos, el del N, es uno de los más importantes y complejos en los agroecosistemas terrestres, debido a que abarca importantes procesos físicos, químicos y biológicos que intervienen en su funcionamiento, estos procesos o etapas determinantes pueden traducirse en entradas, transferencias y salidas representadas del siguiente modo:

- Entradas: fijación biológica, química y/o industrial y depositación.
- Inmovilización por plantas y microorganismos, mineralización Transferencias y reducción disimilatoria del  $\text{NO}_3^-$ .
- Salidas: volatilización del  $\text{NH}_3^+$ , desnitrificación biológica y química, lixiviación y erosión.

Los anteriores procesos (Figura1) son mediados por la actividad de los organismos del suelo, en especial las bacterias, con excepción de la asimilación que la realizan todos los organismos (Acero, 2007; Mcneill, Ann y Unkovich (2007).

**Figura 1.** Esquema representativo del ciclo del nitrógeno.



Fuente: Acero (2007).



## 1.4.1 Entradas de N a los agroecosistemas

### 1.4.1.1 Fijación del nitrógeno N<sub>2</sub>

Aunque el N<sub>2</sub> se encuentra en forma libre y abundante en la atmósfera, es una molécula casi inerte debido a la estabilidad de su triple enlace, siendo únicamente aprovechable por un pequeño grupo de microorganismos llamados Diazotrofos, altamente especializados, que incluyen algas, bacterias y actinomicetos, los cuales pueden ser de vida libre o de carácter simbiótico que mediante reacciones de tipo redox rompen estos enlaces y transforman este N a una forma más utilizable (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) para la mayoría de los seres vivos, en especial las plantas, este proceso es conocido como fijación biológica del nitrógeno N<sub>2</sub> (FBN) (Hubbell, 2000; Kelter *et al.*, 2001; CICEANA, 2009; Tugce *et al.*, 2012).

La forma del N fijado está determinada por el pH, ya que en un medio neutro/alcalino se encuentra como NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, y a pH neutro/ácido se encuentra como ión amonio NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. El N fijado se transforma en NH<sub>4</sub><sup>+</sup> dentro de la simbiosis, que es rápidamente incorporado para la síntesis de aminoácidos tales como alanina y glutamina, proteínas, ácidos nucleicos (ADN y ARN) y otras moléculas fundamentales para los diversos metabolismos (Kelter *et al.*, 2000; Sylvia *et al.*, 2005). Circula al interior de la planta y se incorpora al suelo en la medida que los nódulos de los rizobios finalizan su vida útil y el material vegetal cambiante durante las etapas fenológicas y excedentes del cultivo que se depositan al suelo. De estas formas orgánicas es mineralizado por los organismos amonificantes y bacterias nitrificantes que lo incorporan nuevamente al ciclo de nutrientes.

Esta etapa del ciclo es de gran importancia para la agricultura porque la fijación del N cumple un papel trascendental en la producción de cultivos, ya que los agricultores dejan “descansar” sus tierras después de cierto número de cultivos. Esta vieja práctica da oportunidad a que bacterias como las nitrificantes (BOA y BON) transformen el N<sub>2</sub> fijado durante la simbiosis leguminosa-rizobios para que este fluya en el agroecosistema (CICEANA, 2009).

Otros tipos de fijación del N como la química puede hacerse por dos mecanismos: descargas eléctricas y fijación fotoquímica, que proveen suficiente energía como para formar  $\text{NO}_3^-$ . Este último procedimiento es reproducido a nivel industrial por las plantas productoras de fertilizantes de síntesis química industrial, con elevados costos económicos pues es el petróleo la fuente de energía utilizada para tal fin. (CICEANA, 2009; Crespo y Paz, 2012).

#### 1.4.1.2 Depositación del nitrógeno

Otra vía de suministro de N a los agroecosistemas son los depósitos del elemento provenientes de la atmósfera al suelo especialmente mediante las deposiciones o arrastres, Kelter *et al.*, (2001), aseguran que las deposiciones húmedas, principalmente la lluvia y la nieve, aportan  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , compuestos que podrían considerarse como otra fuente de fertilizante para los cultivos agrícolas, especialmente por la capacidad de arrastre de  $\text{NH}_3^+$  y  $\text{NH}_4^+$  del aire, pero en algunos casos trazas de estos compuestos pueden propiciar la eutrofización. Este proceso se caracteriza por el crecimiento de algas y un bajo nivel de oxígeno, afectando a peces y otros tipos de flora y fauna. En las deposiciones secas tienen lugar interacciones complejas entre compuestos de N de la atmósfera con plantas, agua, tierra, roca o superficies de edificios.

Autores como Mcneill y Unkovich (2007), afirman que el principal mecanismo de regreso del N atmosférico a la tierra es mediante procesos de depositación, bajo la forma de  $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , N orgánico (como aerosoles de aminas), nitratos orgánicos y N particulado (polen, polvo, bacterias, etc).

## 1.4.2 Pérdidas del nitrógeno

### 1.4.2.1 Desnitrificación.

En el ciclo del N la obtención de  $\text{NH}_3^+$  a partir de la reducción de  $\text{N}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ , últimos aceptores de la cadena del metabolismo respiratorio se llama desnitrificación, este proceso puede darse de forma química y/o biológica por acción bacteriana con la ayuda las enzimas nitrato reductasa (NR), que reduce el  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$ , y nitrito reductasa (NiR), que reduce  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NH}_4^+$  (Suárez, 1998; Gallego, 2012).

La desnitrificación biológica es llevada a cabo por hongos y bacterias heterotróficos anaeróbicos del suelo, que pueden utilizar los óxidos de N como aceptores terminales de electrones y carbono orgánico como donador de electrones bajo condiciones de poca disponibilidad de oxígeno. Estos organismos revierten la nitrificación, regresando el N a la atmósfera en forma gaseosa, lo que se traduce en pérdidas para el ecosistema. Excesos de materia orgánica, variaciones de temperatura y pH, alta humedad en el suelo y déficit de oxígeno, son condiciones que propician un ambiente anaerobio que obliga a algunos de estos microorganismos a emplear  $\text{NO}_3^-$  en vez de oxígeno en su respiración (Kelter, 2001; Brady y Weil, 2002; Mcneill y Unkovich, 2007; Crespo y Paz, 2012).

Otra vía para convertir  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{NH}_4^+$  es la desnitrificación química, esta transformación ocurre bajo la intervención de algunos microorganismos aeróbicos heterótrofos del suelo, siguiendo rutas metabólicas no-enzimáticas y bajo condiciones completamente aeróbicas. Esta ruta involucra varias reacciones químicas de los iones  $\text{NO}_2^-$  presentes en el suelo, los cuales inducen la emisión de  $\text{N}_2$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$  y ocasionalmente  $\text{N}_2\text{O}$ , uno de los gases efecto invernadero (GEI) más importantes. Sin embargo, en términos de contribuciones a las emisiones totales de  $\text{N}_2\text{O}$ , la quimio-desnitrificación es considerada relativamente baja (Sylvia, *et al.*, 2005; Mcneill y Unkovich, 2007; Craine *et al.*, 2007; CICEANA, 2009; Gallego, 2012; Menjivar, 2012; Barrios *et al.*, 2012).

### 1.4.2.2 Volatilización

Otro componente del ciclo es la volatilización de los compuestos nitrogenados en forma gaseosa, principalmente  $\text{NH}_3^+$ , el cual regresa fácilmente a la atmosfera, al reaccionar en el suelo por factores como pH, temperatura y humedad. Las plantas pueden ser tanto fuente como sumideros de  $\text{NH}_4^+$ , sin embargo se considera generalmente que los agroecosistemas actúan como emisores de  $\text{NH}_3^+$ , mientras que los ecosistemas naturales semiáridos actúan como sumideros. (Mcneill y Unkovich, 2007; CICEANA, 2009; Barrios *et al.*, 2012; Gallego, 2012; Crespo y Paz, 2012).

### 1.4.2.3 Lixiviación

Otra vía de pérdida del N es la lixiviación, una vez producido el  $\text{NO}_3^-$ , molécula mayormente repelida que absorbida por los coloides el suelo cargados negativamente (arcillas, materia orgánica y complejos órgano-minerales). Debido a esto, puede moverse en las aguas de drenaje y ser arrastrado del perfil del suelo a zonas más profundas (Brady y Weil, 2002; Philippot y Germon, 2005; Sylvia *et al.*, 2005; Barrios *et al.*, 2012; Menjivar, 2012; Gallego, 2012). Brady y Weil (2002). En los agroecosistemas las pérdidas de N por este mecanismo son importantes por dos razones:

- Constituyen un agotamiento nutricional del suelo, aun si está o no bajo un ciclo de cultivo.
- Conducen a daños colaterales para el medio ambiente, las aguas y finalmente a la salud de diferentes formas de vida entre ellas la humana.

Mientras que el transporte de materia orgánica y N mineral se produce por erosión eólica, y el agua, las pérdidas de N orgánico e inorgánico suceden en fases líquidas, sólidas o gaseosas.  $\text{NO}_3^-$ , N orgánico disuelto y N orgánicos solubles pueden perderse por lixiviación (Gallego, 2012).

### 1.4.3 Transferencia

#### 1.4.3.1 Mineralización

La mineralización es el proceso mediante el cual los compuestos orgánicos del N son convertidos a  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , gracias a la acción enzimática de macro y microorganismos del suelo. Aunque algunas plantas pueden tomar  $\text{NH}_4^+$ , la mayoría de ellas toman el N como  $\text{NO}_3^-$  (Dinesh y Dubey, 1998; Philippot y Germon 2005; Sylvia *et al.*, 2005).

La mineralización comprende dos procesos importantes:

- **Amonificación**

En este proceso, las proteínas y otros compuestos nitrogenados presentes en la materia orgánica son convertidos y liberados como  $\text{NH}_4^+$ , este procedimiento es complejo y depende de la actividad enzimática de microorganismos aerobios y anaerobios, que utilizan dichos compuestos orgánicos como fuente de energía. Las enzimas involucradas en la amonificación son las proteinasas o proteasas, las peptidasas, las lisozimas, las ribonucleasas y deoxyribonucleasas, las quitinasas y las ureasas este tipo de enzimas son las encargadas de romper y despolimerizar a monómeros las proteínas, aminopolisacáridos (paredes celulares microbianas), ácidos nucleicos, quitina y de hidrolizar la Urea. Posterior al paso de dichos monómeros por la membrana celular intervienen enzimas como las quitobiosas, la asparginasa y glutaminasa y la aminoacideshidrogenasa y aminoacioxidasa para metabolizar dichos compuestos hasta una forma más simple, amonio  $\text{NH}_4^+$ . Parte de esta molécula liberada es inmovilizada por estos organismos para su nutrición. El rendimiento de la amonificación es variable y está determinado por la naturaleza de la materia orgánica y su influencia sobre el metabolismo microbiano (Sylvia, *et al.*, 2005; Acero, 2007; Gallego, 2012).

- **Nitrificación**

Es la ruta final del proceso secuencial de mineralización de la materia orgánica, mediante el cual se obtiene  $\text{NO}_3^-$  por la oxidación de componentes de N inorgánico, reducidos como  $\text{NH}_3^+$  y  $\text{NO}_2^-$ . Este paso está regido estrictamente por la acción metabólica de, bacterias y microorganismos del suelo (Coyne, 2000). Gran parte de la productividad del suelo depende de la cantidad de nitratos que este pueda producir y retener (Sharma. y Abler, 1977; Acero, 2007; CICEANA, 2009; Ward y Klotz, 2011). Los principales interventores en este proceso son las, bacterias nitrificantes, constituidas por bacterias oxidantes de amonio (BOA) y bacterias oxidantes de nitrito (BON), las cuales se mencionan detalladamente en el acápite posterior a asimilación del N.

La nitrificación se realiza sincronizadamente en dos pasos. El paso uno es la transformación de  $\text{NH}_3^+$  a  $\text{NO}_2^-$ , por las bacterias oxidantes del amoniaco BOA, pertenecientes al género *Nitroso*, sobresaliendo *Nitrosomas* y *Nitrosococcus*. El paso dos es la oxidación de  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  por las bacterias oxidantes del nitrito BON, pertenecientes al género *Nitro*, principalmente *Nitrobacter* (Orozco, 1999; Coyne, 2000; W de Boer, 2001; Brady y Weil, 2002; Madigan *et al.*, 2003; Sylvia *et al.*, 2005; Mcneill y Unkovich, 2007). La oxidación del  $\text{NH}_3^+$  a  $\text{NO}_2^-$  es sensible a la inhibición por varios compuestos a bajas concentraciones, mientras que la oxidación de la hidroxilamina a  $\text{NO}_2^-$  es menos susceptible (Trinidad, 2006). En la nitrificación interactúan factores que pueden influir de forma benéfica o perjudicial, tales como: La temperatura del suelo y el pH, ya que el paso de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  es rápida a más de  $10^\circ\text{C}$  y pH entre 5.5 - 6.5, la disponibilidad de  $\text{NH}_4^+$ , la humedad del suelo, la difusión del oxígeno, algunos metabolitos secundarios como los ácidos orgánicos, la velocidad de mineralización, la concentración de, metales pesados, CIC y la disponibilidad de fosfatos entre otros factores del suelo (Takai *et al.*, 1997; Suárez, 1998; Trinidad, 2006; Acero, 2007; CICEANA, 2009; Barrios, 2010; Gallego, 2012).

### 1.4.3.2 Asimilación

Este proceso ocurre cuando las plantas absorben  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  gracias a que las células vegetales tienen la capacidad para transportar activamente N. La mayor parte del  $\text{NH}_4^+$  se incorpora como compuestos orgánicos en la raíz, ya sea en las proteínas o en los ácidos nucleicos, mientras que el  $\text{NO}_3^-$  se absorbe desde la solución del suelo mediante las células epidérmicas y corticales de la raíz, se mueve en el xilema y se almacena en las vacuolas de las raíces, la parte aérea y los órganos de almacenamiento (CICEANA, 2009).

Una vez el N es procesado por las plantas en sus tejidos puede ser asimilado y convertido por los animales, especialmente los de pastoreo, los cuales influyen significativamente sobre el ciclo del N en los ecosistemas, ya que la mayor parte de este nutriente regresa al suelo por deposiciones, siendo reiteradamente tomado, transformado, liberado e inmovilizado (Orozco, 1999; Trinidad, 2006; Min agricultura, 2001; Gallego, 2012).

Como se mencionó anteriormente en el ciclo del N intervienen las bacterias nitrificantes (BOA y BON), las cuales son responsables de la producción biológica de  $\text{NO}_3^-$  a partir de  $\text{NH}_4^+$ .

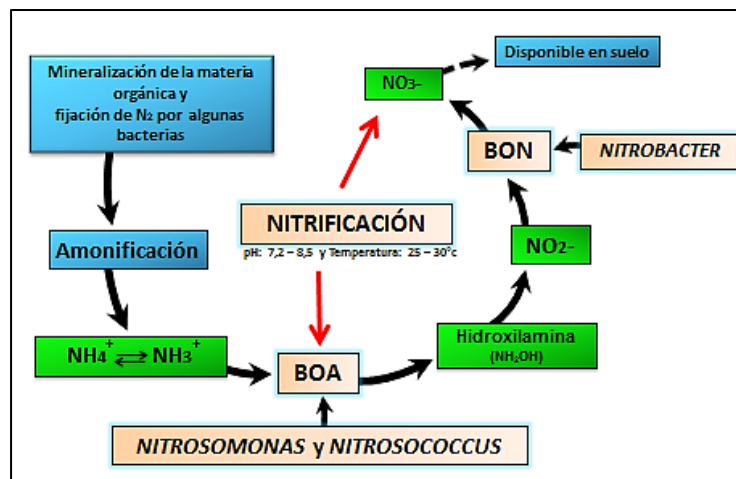
## 1.4.4 Bacterias Nitrificantes

### 1.4.4.1 Bacterias oxidantes de amonio (BOA) y bacterias oxidantes de nitrito (BON)

Como se mencionó anteriormente, en la nitrificación intervienen un grupo de bacterias de suma importancia; las nitrificantes, que trabajan de forma sincronizada del siguiente modo: las bacterias del género *Nitroso* (*Nitrosomonas* y *Nitrosococcus*) toman el  $\text{NH}_4^+$  proveniente de la amonificación, lo modifican hasta hidroxilamina u oxiamoniaco

( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) y finalmente lo convierten en  $\text{NO}_2^-$ . Luego las bacterias del género *Nitro* (*Nitrobacter*) pasan este  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  (Figura 2). Este proceso catabólico genera un suministro energético para estos grupos bacterianos a la vez que provee al suelo de fuentes de N altamente disponibles para las plantas (Wooper, y Terry,1979; Bock *et al.*,1991; Bock y Koops, 1992; Madigan, Martinko y Parker, 2003; Sylvia, *et al.*, 2005. Trinidad, 2006; Gallego, 2012).

**Figura 2.** Nitrificación por actividad oxidativa de bacterias nitrificantes (BON y BOA) a partir de  $\text{NH}_4^+$ .



Adaptado de Sylvia *et al.*, (2005) y Trinidad, (2006)

Las bacterias nitrificantes son organismos unicelulares, aeróbicas estrictas, que pertenecen a la familia *Nitroacteriaceas*, entre las que se encuentran *Nitrosomonas* (género predominante en el suelo), *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospina* y *Nitrospira*. Agrupa bacilos, vibrios y espirilos que tienen la habilidad para utilizar compuestos nitrogenados ( $\text{NH}_4^+$  o  $\text{NO}_2^-$ ) como su principal fuente de energía en forma de carbono  $\text{CO}_2$ ; son quimiolitotróficos obligados, con excepción de algunas especies del género *Nitrobacter*, que pueden crecer mixotróficamente con una mezcla de CO y algunos compuestos orgánicos (Suárez, 1998; Coyne, 2000; Sylvia *et al.*, 2005; Gallego, 2012). Este tipo de organismos pueden



encontrarse en diferentes rangos de pH y hábitats, como aguas dulces, ambientes marinos, alcantarillados, plantas de tratamiento de aguas residuales y suelos agrícolas entre otros, tal como se describen en la tabla 1.

**Tabla 1.** Descripción de géneros y características de las bacterias nitrificantes BOA y BON.

Clase	Genero	Especie	Morfología	Cualidad fisiológica	Rango de crec	Habitat
<b>BACTERIAS OXIDANTES DEL AMONIACO NH<sub>3</sub><sup>+</sup>(BOA)</b>						
Betaproteobacteria	<i>Nitrosomonas</i>	<i>europaeae</i>	Bacilos rectos, con o sin movilidad y con uno o dos flagelos subpolares.	Halotolerante	5 a 40 °C. pH 5.8 a 9.5	Alcantarillado, agua corriente.
		<i>eutrophus</i>		Ureasa.		Suelos.
		<i>halophila</i>		Ureasa.		Agua corriente.
		<i>communis</i>				Oligotrófica.
		<i>nitrosa</i>				Suelo
		<i>oligotropha</i>				Medio marino.
		<i>ureae</i>				Medio marino.
		<i>aestuarii</i>				Suelo, rocas y agua corriente.
		<i>marina</i>				
		<i>briensis</i>				
Betaproteobacteria	<i>Nitrosospira</i>	<i>nitrosus</i>	Forma espiral, con o sin movilidad.	Halofílica.	25 a 30 °C. pH 7.5 a 8.0	Medio marino.
		<i>oceanii</i>	Lobular, pleomórfica, móvil.	Ureasa.		Suelo, rocas y agua corriente.
			Cocos en pares o tétradas.	Algunas Ureasa.		Suelo.
Gamaproteobacteria	<i>Nitrosolobus</i>			Halofílica, algunas ureasa.	15 a 30 °C. pH 6.0 a 8.2	Suelo y medio marino.
		<i>Nitrosococcus</i>				2 a 30 1C. pH 6.0 a 8.0
<b>BACTERIAS OXIDANTES DE NITRITO NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (BON)</b>						
Alfaproteobacteria	<i>Nitrobacter</i>	<i>alkalicus</i>	Bacilos cortos, con o sin movilidad, flagelo polar único.	Halotolerante	5 a 40 °C. pH 5.7 a 10.2	Suelo, agua corriente, rocas, lagos de soda.
		<i>hamburgensis</i>				
		<i>vulgaris</i>				
		<i>winogradskyi</i>				
Gamaproteobacteria	<i>Nitrococcus</i>	<i>mobilis</i>	Celula esférica.	Halofílica.	20 a 30 °C. pH 7.0 a 8.0	Medio marino.
		<i>gracilis</i>				Medio marino.
Deltaproteobacteria	<i>Nitrospina</i>		Bacilos largos y delgados.	Halofílica.	20 a 30°C. pH 7.0 a 8.0	
				Halofílica.		
Nitrospira	<i>Nitrospira</i>	<i>marina</i>	-----			Agua corriente.
		<i>moscoviensis</i>				-----

Modificado de Coyne, (2000) y Sylvia et al., (2005).

Otras características específicas y complementarias de los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* se presentan en la tabla 2.

**Tabla 2.** Características de *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*

Característica	<i>Nitrosomonas</i>	<i>Nitrobacter</i>
Forma de célula	Oval o bacilo	Oval o bacilo
Tamaño de célula (µm)	1 x 1.5	0.5 x 1.0
Movilidad	Móvil o no móvil	Móvil o no móvil
Prueba de Gram	Negativo	Negativo
Tiempo de generación	8 – 36	12 – 59
Autotrofismo	Obligado	facultativo
Requerimientos de oxígeno	Aerobio estricto	Aerobio estricto
$\Delta G^\circ$ KJ/mole $\text{NH}_3 - \text{N}$	- 271	- 7.8
$\mu_{\text{max}}$ a 20°C ( $\text{h}^{-1}$ )	0.5	0.8
Y (mg ssv/mg N)	0.08	0.03
pH	7.8 – 9.2	8.5 – 9.2

Adaptado de Orozco, (1999) y Sylvia, *et al.*, (2005);

### 1.4.5 Características de BOA y BON

En suelos con limitaciones en sustrato, la mayor permanencia de BOA en el tiempo se debe a la capacidad de entrar en latencia, mientras que BON carecen de esta habilidad, recurriendo a fuentes energéticas alternas al  $\text{NO}_2^-$  como los hidrocarburos o desechos orgánicos para sobrevivir. Ante disminuciones de oxígeno las BOA se inhiben rápidamente, mientras que las BON toleran momentáneamente esta condición,

disminuyendo su metabolismo y activando su sistema enzimático reductor (Suárez, 1998).

Según Coyne (2000), las *Nitrosomonas*, son más eficientes en metabolizar el sustrato  $\text{NH}_4^+$  y obtener energía, mientras que *Nitrobacter* obtiene menos energía del sustrato  $\text{NO}_2^-$ , motivo por el cual casi duplica su población para metabolizar en su mayoría la medida de sustrato proporcionado por BOA.

#### **1.4.6 Parámetros que afectan a BOA y BON.**

El crecimiento poblacional de las BOA y BON está condicionado por factores como: Tipo y disponibilidad del sustrato, ante una mayor concentración de  $\text{NH}_4^+$  hay estímulo de BOA e inhibición de BON.

La temperatura es uno de los factores más determinantes para estas bacterias, debido a que el rango óptimo para la nitrificación oscila entre 25° y 30° C, a temperaturas superiores a 40° se reduce hasta 75%, y a menos de 4°C no hay actividad (Suárez, 1998; Coyne, 2000; Brady y Weil 2002; Sylvia *et al.*, 2005; Trinidad, 2006; Rodríguez y Moreno *et al.*, 2007; Crespo y Paz, 2012 y Gallego, 2012).

La humedad del suelo y el pH son factores críticos para la BOA, BON y la nitrificación, diferentes investigaciones han encontrado las mayores tasas de nitrificación en suelos con un drenaje óptimo es decir, con cerca del 60% de sus poros ocupados por agua, mientras que en suelos saturados por esta se dificulta la nitrificación debido al escaso intercambio de gases, principalmente  $\text{O}_2$ . En suelos secos, la nitrificación se limita por los efectos fisiológicos de la deshidratación sobre las bacterias nitrificantes. El rango óptimo de pH para BOA oscila entre 7.2 y 8.5, y para BON oscila entre 7.8 y 8.0, en suelos con pH ácido el  $\text{NO}_2^-$  se descompone químicamente a ácido nitroso, ácido nítrico y óxido nítrico, y en suelos con pH neutro o alcalino el  $\text{NO}_2^-$  sirve como sustrato para la nitrificación (Milton, 2001; Brady y Weil 2002; Sylvia, *et al.*, 2005; Trinidad, 2006; Zornoza *et al.*, 2012; Gallego, 2012).

A nivel de laboratorio, para observar la densidad poblacional de bacterias del suelo, generalmente se utilizan medios líquidos para su cultivo, empleando metodologías como el número más probable (NMP), para realizar recuento de bacterias nitrificantes y desnitrificantes empleando suelo como matriz, con 0.5 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  como sustrato y adicionando  $\text{CaCO}_3$  como estabilizador de pH. Rodríguez y Moreno *et al.*, (2007).

## 1.5 Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular (HMA)

Los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) son uno de los componentes de los ecosistemas naturales, representan entre el 5 y el 50% de la biomasa de los microorganismos del suelo y son considerados como una comunidad biológica diversa y activa, esencial para incrementar la sostenibilidad de los agroecosistemas (Reyes, 2002; Pérez y Vertel, 2010).

Las micorrizas arbusculares (MA) interactúan simbióticamente con cerca del 90% de las plantas terrestres, formando diversos tipos de asociaciones micorrícicas y aunque el número total de hongos del suelo involucrados en esta simbiosis es desconocido, muchos cultivos importantes en agricultura como el maíz, han sido beneficiados por estas asociaciones, transmitiendo estos efectos positivos sobre la productividad del sistema (Newsham *et al.*, 1995; Serralde y Ramírez, 2004; Johnson y Gehring, 2007; Brundrett, 2008; Pérez y Vertel, 2011). Las asociaciones con HMA representan la simbiosis de mayor relevancia en los sistemas agroecológicos. Esta es a menudo mutualista, basada en gran parte en el intercambio de Carbono y fósforo (Smith y Smith, 2007).

Los HMA son característicos de plantas que crecen en suelos minerales, en donde las fuentes de P inorgánico y N son frecuentes, son simbioses obligados y obtienen el C de la simbiosis, condición que los incita a colonizar cualquier planta afín con ellos, esta relación es a menudo mutualista, basada en gran parte en el intercambio de C de la planta y P entregado por los hongos, sin embargo, las condiciones físico-químicas del suelo podrían generar cierto tipo de especificidad con respecto a las plantas hospedadas,

conforme a las respuestas que muestran las plantas a determinadas especies de HMA (Smith y Smith, 2007).

## 1.5.1 Componentes de HMA

### 1.5.1.1 Colonización total (CT)

En el suelo, una vez que HMA hace contacto con la raíz y se establece la simbiosis, los tejidos que presentan la mayor presencia del simbionte son la epidermis y las células corticales. Los HMA se han especializado en introducirse en las células corticales de la planta y formar estructuras singulares para poder llevar a cabo su metabolismo. Otras estructuras filamentosas gruesas y finas se ramifican a través del suelo, estas hifas distributivas y/o absortivas, son las responsables de la propagación de la asociación, la formación de esporas y la toma y transporte de agua, macro y micronutrientes, principalmente P y N. (Reyes, 2002; Sánchez de P., *et al.*, 2007; Brundrett *et al.*, 2008; Leihg *et al.*, 2009).

Al interior de la raíz y dependiendo de la especie vegetal, la respuesta de los HMA involucrados puede presentarse morfológicamente como micelio o serie *Arum* y *Paris*, también conocidos como lineal y espiral o bobinado. Las diferencias entre estos dos tipos de propagación no minimizan su importancia y potencial dentro de los agroecosistemas. (Smith y Smith, 1997; Brundrett *et al.*, 2008). El micelio *Arum*, se presenta cuando las hifas se proliferan de forma creciente y longitudinal entre las células corticales del huésped debido al crecimiento a través de espacios de aire longitudinales intercelulares de la raíz. Mientras que el micelio *Paris* es resultado del crecimiento dentro de las células, ya que en estas el espacio para el aire es limitado (Smith y Smith, 1997; Brundrett *et al.*, 2004; Sánchez de P., *et al.*, 2007).

### **1.5.1.2 Micelio vivo y activo (MV) de HMA**

De todo el micelio presente dentro o fuera de la raíz solo el micelio activo participa en la absorción, translocación y transporte P hasta los arbusculos, el resto del micelio se constituye en puente para la movilidad de agua y otros nutrientes. En este se acompleja como ATP proceso metabólico en el cual interviene la succinato-deshidrogenasa, enzima ligada al ciclo de Krebs que se puede marcar mediante la tinción vital conocida como NBT-succinato, cuyos detalles se presentan en el Anexo B (Sánchez de P., *et al.*, 2010).

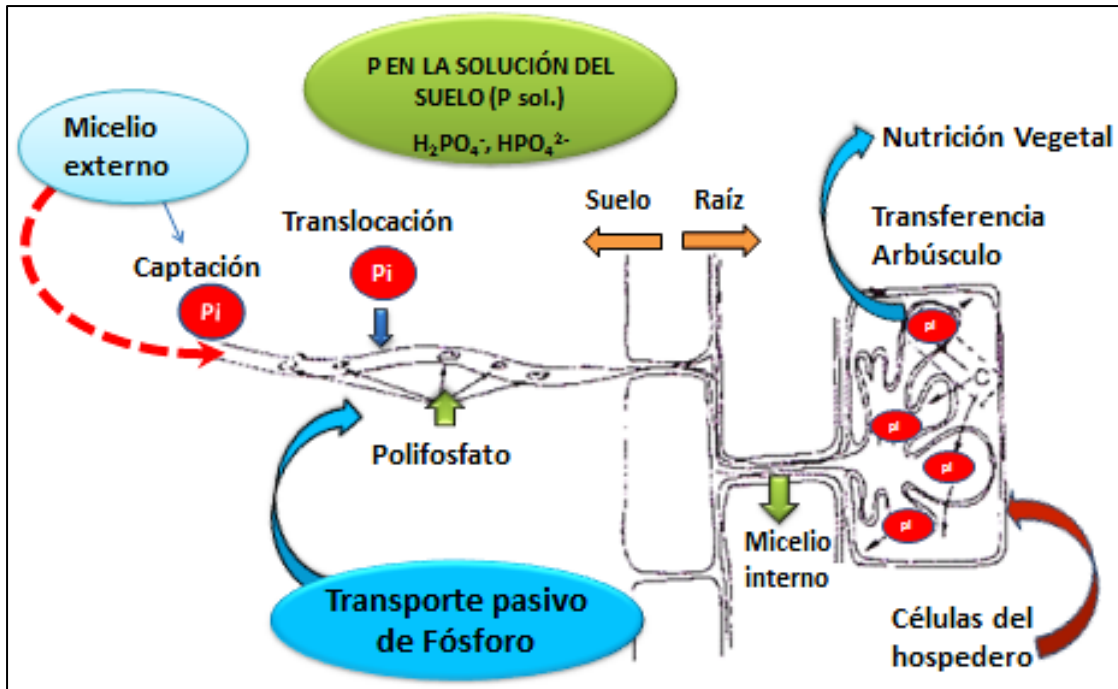
Aunque esta técnica de tinción permite visualizar y estimar el micelio participante en la absorción del P e indica factores que pueden estimular o inhibir el proceso, en sí, su comportamiento no es revelador de la efectividad de la simbiosis (Sánchez de P., *et al.*, 2010; Vélez, 2012).

### **1.5.1.3 Micelio externo (ME) de HMA**

Esta estructura tubular que se extiende en el suelo beneficia a la planta al incrementar el volumen de suelo explorado, lo cual se traduce en mayor adquisición de agua y nutrientes, especialmente iones poco móviles y disponibles como el P, pero de difícil acceso aun para el fino sistema radical de la planta. ME, actúa como un puente que llega hasta los microporos del suelo gracias al tamaño de sus hifas distributivas, cercanas a los 27 $\mu$  de diámetro, al igual que sus hifas absortivas, cuyo diámetro oscila entre 2 y 7 $\mu$ , las cuales conducen de forma continua el elemento desde los acopios hasta la raíz, contribuyendo así a suplir algunas demandas nutricionales de la planta. Este comportamiento estratégico de ME acondiciona a la planta para tolerar y resistir situaciones ambientales adversas, tales como sequía, déficit nutricional del suelo entre otras (Torres, 2000; Zárate, 2006; Sánchez de P., *et al.*, 2007, 2009; Sánchez de P y Velásquez 2008 y Vélez 2012).

La captación, transporte y translocación de P por el ME hasta la célula de la raíz se presenta en la figura 3.

**Figura 3.** Mecanismo de captación, translocación y transporte del fósforo por ME de HMA.



Adaptado de Sánchez de P., *et al.*, (2007).

Investigadores han reportado que la longitud del ME (m/gss) es altamente influenciada por el suelo y sus variaciones, llegando a valores que oscilan entre (3.1 hasta 40 m/gss) dependiendo de propiedades de los suelos como densidad aparente, pH, contenidos de materia orgánica, textura, entre otras. Los mayores valores de longitud de ME se encuentran en los primeros diez centímetros del suelo y su expresión está influenciada además de las plantas hospederas, por las especies de HMA asociados y condiciones ambientales (Sánchez de P., *et al.*, 2007, 2009; Sánchez de P. y Velásquez, 2008).

Otra de las propiedades emergentes de ME es la formación de microagregados del suelo, influyendo en la textura, mejor porosidad y difusión de gases, regulación de la

temperatura, mejor circulación del agua y mayor capacidad de resistencia frente a la erosión, (Labrador, 2001; Zárate, 2006; Johnson *et al.*, 2007).

HMA a través de todos sus componentes indica de forma eficiente los cambios en el suelo, sin embargo, ME es el componente que más expresa su sensibilidad ante la influencia favorable o inhibitoria de agentes bióticos y abióticos del suelo, entre los cuales se encuentran temperatura, pH, precipitación y humedad, textura y estructura del suelo, variaciones climáticas, condiciones fisiológicas de la planta hospedera, interacciones con otros organismos del suelo, prácticas agronómicas como fertilización de síntesis industrial, orgánica, enmiendas, aplicación de biocidas entre otros tipos de controles de arvenses y patógenos entre otros (Johansen *et al.*, 1992; Sánchez de P., *et al.*, 2007; Sánchez de P. y Velásquez, 2008; Sánchez de P., *et al.*, 2009; Martín *et al.*, 2009, Johnson *et al.*, 2007; Sarabia *et al.*, 2010; Garrido, 2010; Stavros *et al.*, 2012; Vélez, 2012).

## 1.6 Cultivo del Maíz

El maíz es uno de los cultivos más estables en las cadenas productivas de diversos países, gracias a los amplios usos a nivel, industrial y como eje de la seguridad alimentaria en muchas comunidades. Sin embargo, según Minagricultura (2011), en Colombia los pequeños productores, con extensiones de tierra menores a 5 hectáreas, conforman el 85% de la producción del maíz, pero no poseen los recursos suficientes para nivelar a los grandes productores. Aproximadamente 200.000 familias dependen de esta actividad (CONFECAMPO, 2008 y Cadena productiva del maíz, 2012). Parte de los elevados costos de producción influyen significativamente en esta situación, especialmente los fertilizantes fosforados y nitrogenados, surgiendo un reto interesante para los productores en el sentido de mejorar la productividad de este cultivo, disminuir la dependencia de los paquetes tecnológicos tradicionales y retomar practicas sencillas y asequibles que les permita producir minimizando costos de producción y contribuir en la recuperación del suelo y sus propiedades.



Según García (2005), el cultivo de maíz responde con mayor eficiencia a las fertilizaciones nitrogenadas y la disponibilidad de este elemento en las épocas más críticas del cultivo es fundamental para lograr mayores rendimientos. Según Vélez (2012), mediante alternativas como los AV se busca encontrar fuentes orgánicas que liberen los nutrientes paulatinamente y además de contribuir al incremento de los rendimientos, también mejore las propiedades de los suelos.

Diferentes investigaciones con maíz señalan los beneficios de los AV sobre este cultivo. Sangakkara *et al.*, (2004), afirman que el uso de *Crotalaria juncea* y *Tithonia diversifolia* incorporados al suelo como AV en el cultivo de maíz, promueven la emisión de brotes y el desarrollo radical en plántulas en crecimiento. Esto es debido, según ellos, al mejoramiento que hacen los AV en las propiedades fisicoquímicas de un suelo.

Sancllemente (2009), al evaluar las diferencias de rendimiento en un cultivo de maíz cuando fue fertilizado con AV (*Mucuna pruriens*), con fertilización química industrial, con fertilización orgánica y con una mezcla de las tres encontró que los AV lograron incrementar entre 31% y 71% los contenidos de N total en los suelos en comparación con las parcelas testigos en donde no se incorporaron (AV). Así mismo esta práctica incrementó los valores hallados para N orgánico y los contenidos de humedad del suelo, sin embargo los tratamientos en los cuales se incorporaron de forma única los AV presentaron una mayor incidencia de arvenses acompañantes del cultivo del maíz.

Astier *et al.*, 2006 evaluaron el efecto de la incorporación de dos AV y diferentes tipos de labranza sobre los rendimientos de maíz en un andisol de México. Ellos encontraron que hubo un efecto significativo de los AV sobre los rendimientos y la producción de materia seca del maíz. Los rendimientos fueron mayores en los tratamientos en los cuales se incorporó el AV en comparación con los demás tratamientos.

Gallego, (2012) y Vélez, (2012), en sus investigaciones emplearon maíz como indicador de los beneficios de la relación de los AV, bacterias nitrificantes y HMA sobre el suelo y sobre la producción del cultivo. Apoyado en estas investigaciones y en los resultados

obtenidos sobre la dinámica del N y estos microorganismos al usar *Axonopus scoparius* (Flüggé) Kuhl y *Canavalia ensiformis* L. DC, como AV mediante su mezcla física en el cultivo de maíz, *Zea mays* L., en esta investigación se emplearon las mismas especies para dar continuidad a las observaciones y al efecto de estas asociaciones en un segundo ciclo de cultivo de maíz.

## Capítulo 3: Materiales y Métodos

Para cumplir con los objetivos propuestos, esta investigación se llevó a cabo en dos fases:

- **FASE DE CAMPO:** En la cual se hizo el establecimiento de abono verde (AV) compuesto por una leguminosa y una gramínea, cosecha en etapa de floración de la leguminosa y posterior establecimiento del cultivo de maíz. El sistema establecido se monitoreó de conformidad con interrogantes a resolver mediante muestreos en campo y análisis de laboratorio.
- **FASE DE LABORATORIO:** Allí se evaluaron variables relacionadas con la dinámica del N en el suelo y bacterias nitrificantes, al igual que componentes de MA relacionados con los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA).

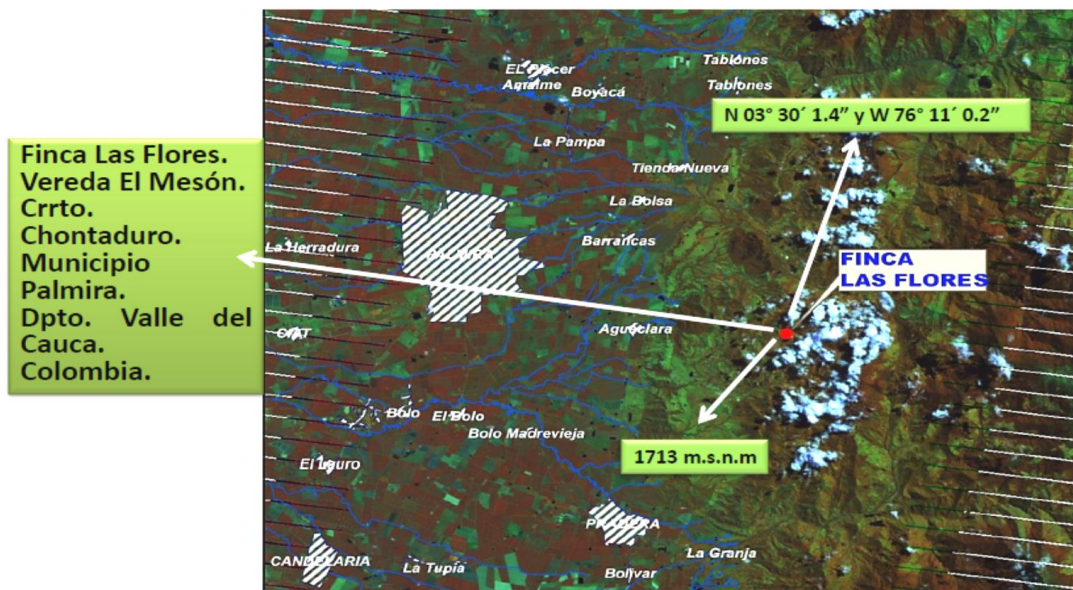
### 1.7 Fase de Campo

#### 1.7.1 Ubicación del Área Experimental

Para el montaje del ensayo y establecimiento de los cultivos se seleccionó el predio conocido como finca “Las Flores”, perteneciente al ingeniero agrónomo Adolfo Carvajal y la señora Gladys Pomeo. Dicho predio está ubicado en la vereda El Mesón, corregimiento de Chontaduro, municipio de Palmira, departamento del

Valle del Cauca, Colombia (Figura 4). Está georeferenciado con las coordenadas  $03^{\circ} 30' 1.4''$  N y  $76^{\circ} 11' 0.2''$  W, a una altura de 1713 m.s.n.m., temperatura media anual de  $20.8^{\circ}\text{C}$ , precipitación media anual de 1396 mm/año y humedad relativa media anual del 74.4% según CVC (2006). Según CVC y UNAL, (2001) la finca se encuentra ubicada en una zona de vida correspondiente a un bosque húmedo Premontano (bh-PM).

**Figura 4.** Ubicación geoespacial de la finca “Las Flores”. Imagen satélite LANDSAT 7EM.



Fuente: Gallego, 2012.

La finca “Las Flores” cuenta con un sistema de manejo basado en prácticas agroecológicas. El suelo en el cual se estableció el ensayo permaneció sin uso para producción agrícola durante aproximadamente cuatro años, período donde fue intervenido con roza a machete y limpieza manual de residuos vegetales, posteriormente se adecuaron las unidades experimentales para el primer ciclo de cultivo abonos verdes y maíz. Una vez culminado el primer ciclo (comprendido entre Enero 2010 a Diciembre 2011), el suelo se dejó en reposo y ocho meses después (Agosto 2012) se inició el segundo ciclo de abonos verdes y maíz, que comprendió esta investigación.

A través del tiempo la vegetación del predio ha estado representada por cultivos para sostenimiento familiar y pecuario, tales como: (cebolla junca) *Allium fistulosum* L., (banano) *Musa paradisiaca* L., (naranja) *Citrus sinensis* (L.), (limón) *Citrus limón* (L), (frijol) *Phaseolus vulgaris* L., (yuca) *Manihot esculenta* Crantz L., (café) *Coffea arábica* L., (arracacha) *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft., (lulo) *Solanum quitoense* L., (mora) *Rubus glaucus* Benth., (guandul) *Cajanus cajan* Millsp., (mirasol) *Tithonia diversifolia* Hemsl., (nacedero) *Trichanthera gigantea* (Bonpl.) Nees., (heliconia) *Heliconia caribaea* L.f., (jengibre rojo) *Alpinia purpurata*, L (pasto imperial) *Axonopus scoparius* (Flüggé) Kuhlms y algunos pastos de corte entre otras especies vegetales. (Inventario recopilado por el autor).

De la vegetación espontánea presente en la finca Gómez (2012), identificó y cuantificó a nivel de las parcelas experimentales las siguientes especies de acuerdo con su riqueza: *Daucus montanus* (apio de monte), *Commelina diffusa* Burm. F. (siempre viva), *Drymaria cordata* (L) (golondrina) y *Polygonum segetum* H. B. K. (corazón de Jesús). Otras especies frecuentes pero en menor número fueron: *Oxalis corniculata* L. (acedera o trébol pequeño), *Oxalis latifolia* H. B. K. (acedera o trébol grande), *Plantago major* L. (yantén), *Plantago rugelii* Decne. (Yantén), *Oplismenus burmannii* (Retz) P. Beauv. (grama de conejo), *Tripogandra cumanensis* (Kunth) Woods. (siempre viva), *Cyperus niger* Ruiz & Pav. (cortadera), *Amaranthus dubius* Mart. (Bledo), *Emilia sonchifolia* (L) DC. (pincel), *Hyptis capitata* Jacq. (cabeza de negro), *Jaegeria hirta*, *Lagaceae mollis* (barquito), *Siegesbeckia jorullensis* H. B. K. (botón de oro), *Trifolium repens* L. (trebolo), *Bidens pilosa* L. (papunga), *Phyllanthus niruri* L. (viernes santo), *Salvia* sp. (salvia), *Sida acuta* Burm f. (escoba negra).

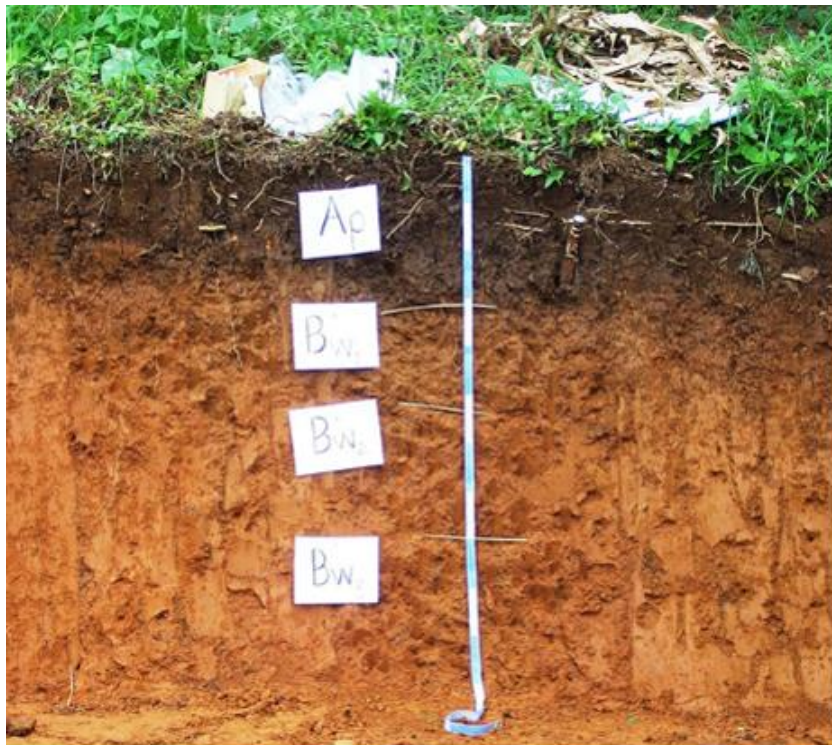
### 1.7.2 Caracterización de suelos objeto de estudio

Partiendo del levantamiento en campo de una calicata de 1.80 m de profundidad y de acuerdo a su perfil característico (Figura 5), el suelo objeto de estudio fue identificado y clasificado por Rubiano (2010), como *humic dystrochets*, caracterizado por unepedón úmbrico, que reposa sobre un endopedón cámbico, con predominio de arcillas 1:1, saturación de bases mayor del 50% y un horizonte con altos contenidos de materia

orgánica (55.4 – 56.9 g/ kg de suelo) un tanto atípica para el orden taxonómico, el régimen de humedad es údico, influenciado por una precipitación promedio de 1396 mm/año.

La caracterización físico - química del suelo evaluado y la metodología utilizada para ello se presenta detalladamente en los anexos A, B y C. Este suelo es del orden inceptisol, desarrollado a partir de arcillolitas, su topografía es fuertemente inclinada con una pendiente de aproximadamente el 12% de inclinación, la textura es franco arcillosa y el drenaje es natural, descrito como moderadamente bien drenado (Gallego, 2012; Vélez, 2012; Marín, 2013).

**Figura 5.** Perfil característico del *Humic Dystrupets* en la finca “Las Flores”.



Fuente: Gallego, 2010.

### 1.7.3 Características Químicas del Suelo Evaluado

Antes de la adición de los AV, el suelo presentó un pH entre 5.3 y 5.6 (Tabla 3), calificado agronómicamente como moderadamente ácido, rango considerado por Ortega y Corvalán (s.f.) como aceptable y poco limitante para la actividad productiva en los suelos.

Las concentraciones de materia orgánica (5,5 - 5,9%) son altas para clima medio, de acuerdo con Cuesta y Villaneda, (2005). Como era de esperarse y según ICA (1992), Cuesta y Villaneda (2005), estos valores superan los rangos para un suelo de clima templado y de textura franca arcillosa. Resultados derivados del manejo agroecológico en el predio, sumado a factores edáficos, climáticos y topográficos que favorecieron su acumulación.

De acuerdo con Menjivar (2012), la capacidad de intercambio catiónico CIC (26.7 - 31.4 cmol/kg) es alta, teniendo en cuenta la textura franco arcillosa del suelo y la abundancia de materia orgánica, ya que estos materiales coloidales tienen la cualidad de atraer y retener más cationes en el suelo, debido a las cargas negativas que presentan en su superficie específica.

Los niveles de Ca y Mg, fueron altos (9.2- 11 cmol/kg y 5.0 – 6.7 cmol/kg) y las relaciones Ca/Mg (1.4 – 1.9 cmol/kg) moderadas o normales. La relación Ca/Mg tiende a incrementarse especialmente en el suelo correspondiente a C, influyendo de forma antagónica sobre los niveles de K (0.11 – 0.27 cmol/kg). Según Menjivar (2013)<sup>1</sup>, “estas bajas concentraciones de K se corroboran con los valores de la relación K/Mg (0.02 – 0.04 cmol/kg), la cual muestra una carencia inducida de elemento”.

Tal como se especifica en la tabla 8, las concentraciones de B están en un rango moderado (0.2 - 0.39 mg/kg) y las de Cu (2.61 - 2.92 mg/kg) también, exceptuando FQ y AV cuyos valores señalan altas concentraciones.

El análisis señaló bajos contenidos Fe, cantidad no limitante para la variedad sembrada (Semicol, 2012). Sin embargo, el rango de P (0.6 - 2.0 mg/kg), se califica como insuficiente para suplir las necesidades nutricionales del cultivo de maíz, cercanos a 200

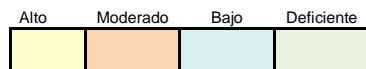
Kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha (Ortega y Corvalán, s.f y Cuesta y Villaneda, 2005). Limitación que de acuerdo con Sánchez de P., *et al.*, (2007, 2009) y Vélez (2012) favorece la expresión de HMA para la toma y suministro del nutriente.

De acuerdo con Estrada, (2002) y Marín (2013), los contenidos de Mn (151.0 - 174.7 mg/kg) y Zn (4.0 -5.1 mg/kg) se calificaron como altos. La concentración de Mn corresponde a características heredadas del material parental. Según CVC y UNAL (2001), la zona donde se encuentra ubicada la finca pertenece a la asociación Frayle, cuyo material geológico subyacente es de tipo ígneo, y específicamente diabasas meteorizadas. Estas rocas están compuestas por minerales primarios como la biotita (Rubiano, 2010), la cual posee cantidades importantes de Mn (Brady y Weil, 2004).



**Tabla 3.** Características químicas del suelo Finca “Las Flores” (Pre- establecimiento de los AV).

TRATAMIENTO	pH (Un)	MO (g/kg)	P-Bray II (mg/kg)	K (cmol/kg)	Ca (cmol/kg)	Mg (cmol/kg)	Ca/Mg	K/Mg	Ca/K	Ca + Mg /K	Al (cmol/kg)	CIC (cmol/kg)	S (mg/kg)	B (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)
TESTIGO (T) suelo inicial	5,6	56,9	0,9	0,18	9,2	5	1,84	0,04	51,11	78,89	0,05	30,7	27,15	0,31	5,65	155,7	2,61	4,02
QUÍMICO (FQ)	5,4	58,5	1,3	0,27	9,4	6,7	1,40	0,04	34,81	59,63	0,05	26,7	37,37	0,36	6,59	174,7	3,33	5,17
ABONOS VERDES (AV)	5,3	55,6	2	0,18	9,9	6,4	1,55	0,03	55,00	90,56	0,1	28,6	34,27	0,33	7,84	151	3,52	4,38
COMPOST (C)	5,3	55,4	1	0,11	11	5,8	1,90	0,02	100,00	152,73	0,1	31,4	23,69	0,2	7,29	168,4	2,92	4,08
AV + COMPOST (AV + C)	5,4	57,8	0,6	0,2	10,7	6,4	1,67	0,03	53,50	85,50	0,05	29,5	26,79	0,39	6,46	158,8	2,61	4,75



Fuente: Laboratorio de servicios Analíticos CIAT (2011).

### **1.7.4 Establecimiento del Experimento**

Se planificaron 5 tratamientos:

**T1.** Testigo absoluto: cultivo de maíz con manejo local, sin adición de fertilizantes, abonos verdes o cualquier tipo de compost o enmienda (TA).

**T2.** Sistema de cultivo de maíz con fertilización química (TQ).

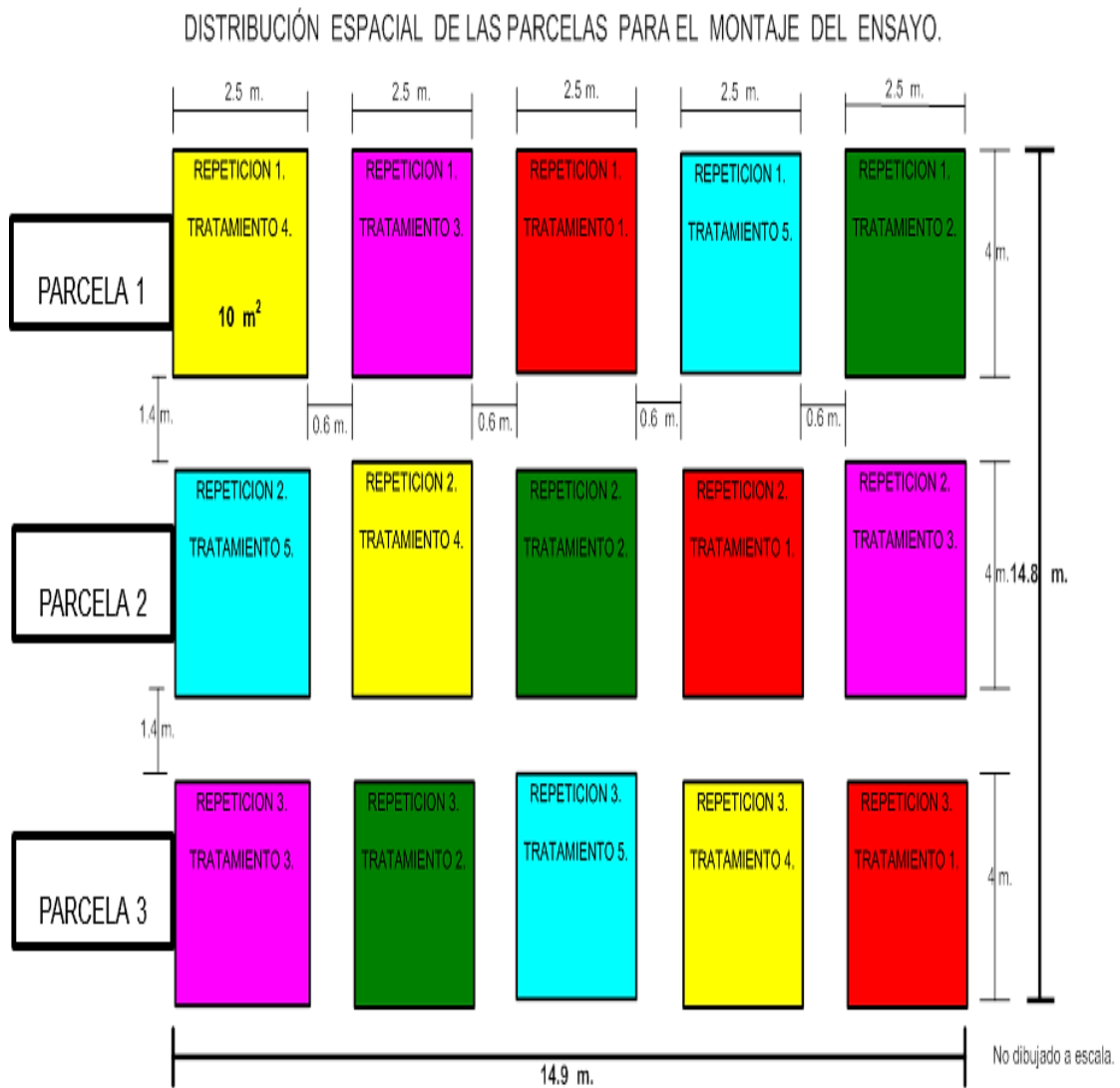
**T3.** Sistema de cultivo de maíz con mezcla física de abonos verdes incorporada al suelo (AV).

**T4.** Sistema de cultivo de maíz con incorporación de compost (C).

**T5.** Sistema de cultivo de maíz con incorporación de abonos verdes y compost (AV+C).

Para cada tratamiento se asignó una parcela de 10 m<sup>2</sup> (2.5 m de ancho por 4 m de largo), delimitando un área experimental de 150 m<sup>2</sup> para las unidades en conjunto y un área total de 220.52 m<sup>2</sup>, incluyendo calles y distancia entre surcos (Figura 6). Se emplearon tres repeticiones por tratamiento las cuales se organizaron en el sentido de la pendiente. El diseño experimental correspondió a bloques completos al azar (BCA).

**Figura 6.** Distribución espacial de los tratamientos en los bloques experimentales.



Fuente: Gallego, 2010

#### 1.7.4.1 Abonos verdes empleados

**Gramínea:** *Axonopus scoparius* (Flüggé) Kuhlmann.

Orden: Poales.  
Familia: Poaceae.  
Subfamilia: Panicoideae.  
Tribu: Paniceae.  
Género: *Axonopus*.  
Especie: *Axonopus scoparius*.

Nombres comunes: Pasto carpeta, pasto imperial, Pie de paloma, hierba imperial, gramalote, entre otros (Estrada, 2002).

**Leguminosa:** *Canavalia ensiformis* (L.) DC.

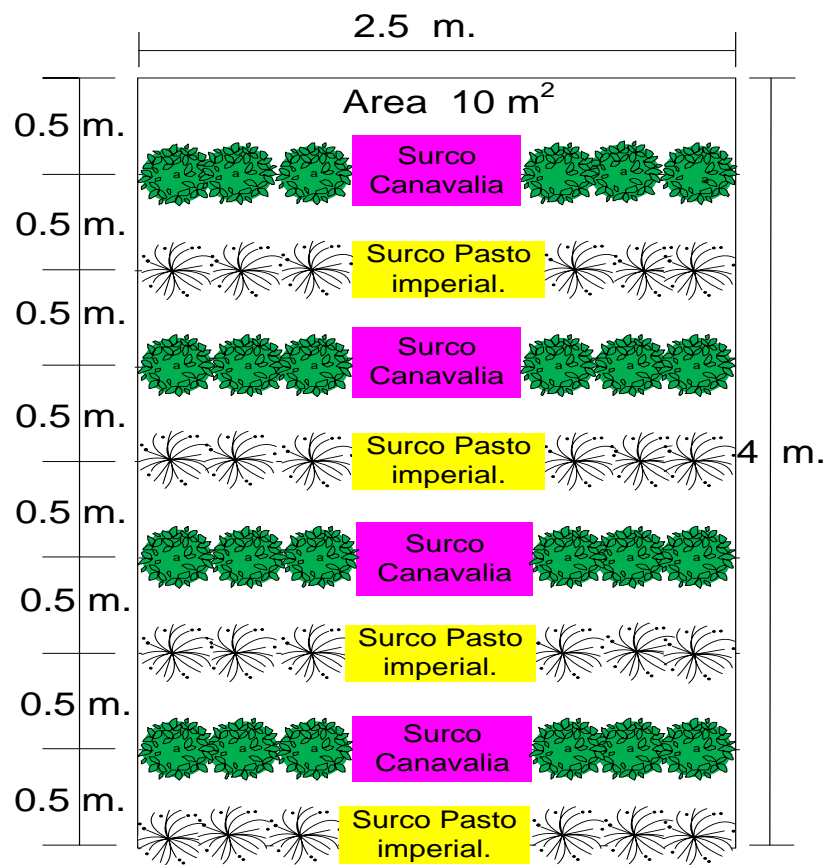
Orden: Fabales.  
Familia: Fabaceae.  
Subfamilia: Faboideae.  
Tribu: Phaseoleae.  
Subtribu: Diocleinae.  
Género: *Canavalia*.  
Especie: *Canavalia ensiformis*.

Nombres comunes: Haba de burro, frijol de chancho, frijol espada, frijol mantequilla, entre otros (CIDICCO, 1991).

Estos AV se obtuvieron a partir de semilla comercial (*Canavalia ensiformis*) y material de propagación propio y disponible de la zona experimental (*Axonopus scoparius*). Fueron

sembrados de forma intercalada (surco de leguminosa y surco de gramínea) en las unidades experimentales a una distancia de 0.5 m, entre surcos con distancia entre plantas de 0.15 m para *A. scoparius* y una densidad de siembra de 133.332 plantas/ha y 0.20 m entre plantas de *C. ensiformis* para una densidad de 100.000 plantas/ha (Figura 7).

**Figura 7.** Distribución de los AV en las parcelas experimentales.



Distancia entre plantas de *Canavalia ensiformis*: 0.15 m; distancia entre plantas de *Axonopus Scoparius* 0.20 m

Fuente: Gallego (2010).

Los AV se dejaron crecer por aproximadamente 3 meses hasta la época de floración de la leguminosa, cuando se cortaron con guadaña, se pesaron y adicionaron a la superficie

44 Efecto de abonos verdes sobre la dinámica de hongos micorrizógenos (HMA) y bacterias nitrificantes en un ciclo de cultivo de maíz, *Zea mays* L.

---

del suelo en los tratamientos correspondientes (Figura 8). También se tomó una muestra de los AV para su respectiva caracterización nutricional.

**Figura 8.** (A) AV establecidos en las parcelas experimentales; (B) *A. scoparius* y *C. ensiformis*, cortados y pesados; (C, D) adición de AV en las parcelas correspondientes.



Fotos: Hernández, C; Marín, E y Gómez, S. 2011

### 1.7.4.2 Caracterización química del material vegetal utilizado como AV.

La caracterización de los AV utilizados en este ensayo mostraron la siguiente composición en base seca (Tabla 4): *Canavalia ensiformis* L. tiene altos contenidos de nitrógeno (3.03%) en comparación con *Axonopus Scoparius* (1.57%). Los demás nutrientes fueron mayores en *C. ensiformis*, aunque *A. scoparius* presentó mayores contenidos de C, Na, Mn y Zn.

**Tabla 4.** Composición nutricional de *A. scoparius* y *C. ensiformis* a los 70 días después de siembra.

Nutriente peso seco	C. ensiformis concentración en muestra	Aporte al suelo por parcela	A. Scoparius concentración en muestra	Aporte al suelo por parcela
N (g/kg)	30,3	90,9 g	15,7	47,1 g
P(g/kg)	1,4	4,2 g	1,2	3,6 g
C(g/kg)	340.8	1022,4 g	609.0	1827,0 g
Ca(g/kg)	30,8	92,4 g	11,4	34,2 g
Mg (g/kg)	3,2	9,6 g	3,6	10,8 g
K (g/kg)	22,5	67,5 g	20,0	60,0 g
Na (mg/kg)	29,4	0,088 g	33,4	0,010 g
Cu (mg/kg)	5,2	0,016 g	3,4	0,010 g
Zn (mg/kg)	30,0	0,09 g	57,0	0,017 g
Mn (mg/kg)	69,7	0,021 g	96,2	0,029 g
Fe (mg/kg)	290,0	0,087 g	243,5	0,073 g
S-Total (g/kg)	1,50	4,5 g	1,48	44,4 g
B-Total(mg/kg)	23,4	0,070 g	12,6	0,038 g
% de Humedad de las muestras	85,0	.....	90.0	.....

dds: días después de siembra.

**Fuente:** Laboratorio de servicios Analíticos CIAT, (2013).

*A. scoparius* presenta casi el doble del contenido de C en comparación con *C. ensiformis*, y las relaciones C/N muestran que mientras el material de la leguminosa es altamente degradable (11.2) y mineralizable, la gramínea es más recalcitrante (38.8) y lentamente mineralizable (Estrada, 2002). Estos resultados permiten inferir los beneficios de la mezcla de estos dos materiales sobre el suelo, y como fuente gradual de nutrientes disponibles para el cultivo posterior a la incorporación, tal como lo fue el maíz en este ensayo. Estos contenidos de N y C de *C. ensiformis* son muy cercanos a los encontrados



por Barreto *et al.*, (1994), quienes hallaron (2.2%) de N para la leguminosa, (34.5%) de C y (15.2) de relación C/N, y a los hallados por Cobo *et al.*, (2002) para la leguminosa, (3.7%) de N, (44.5%) de C y (12.0) de relación C/N.

Tras su incorporación los AV aportaron 25,5 kg de biomasa fresca por parcela, cantidad compuesta por 8 kg de *C. ensiformis* y 17.5 kg de *A. scoparius*, devolviendo al sistema suelo-planta del 85 al 90% de su peso en agua y aportando cerca de 3 kg/parcela de biomasa seca, fuente nutricional para las formas de vida, que intervienen en la mineralización de la materia orgánica en el suelo (Bunch, 1994; Sánchez de P, 2008; FAO, 2010).

#### 1.7.4.3 Caracterización química del compost utilizado

La composición química del compost empleado como abono orgánico se muestra en la Tabla 5, y las metodologías empleadas se encuentran en el Anexo B.

**Tabla 5** Composición nutricional del compost empleado como abono orgánico

Nutriente peso seco	Compost concentración en muestra	Aporte al suelo por parcela
C(g/kg)	185,57	1113,42 g
N (g/kg )	7,44	44,64 g
P(g/kg)	8,74	52,44 g
K (g/kg)	10,92	65,52 g
Ca(g/kg)	83,49	500,94 g
Mg (g/kg)	9,91	59,5 g
S-Total (g/kg)	3,50	21,0 g
B-Total(mg/kg)	37,87	0,022 g
Fe (mg/kg)	91,58	0,054 g
Mn (mg/kg)	519,18	0,031 g
Cu (mg/kg)	52,16	0,031 g
Zn (mg/kg)	142,79	0.086 g

**Fuente:** Laboratorio de servicios Analíticos CIAT, (2013).

Aunque la concentración de N fue mayor en AV, el compost presentó mayor concentración de algunos nutrientes como Ca, P, Mg, B y Fe. La concentración de Mn fue alta, sin embargo, no se considera una cantidad limitante para el desarrollo del cultivo de maíz, (Gallego, 2012; Menjivar, 2012; Vélez, 2012). La incorporación de esta fuente nutricional se realizó el mismo día de la siembra, aplicando 120 g del producto por sitio de siembra, para un total de 6 kg por parcela. Inicialmente la aplicación fue localizada, pero debido al movimiento de suelo realizado sobre la línea de siembra, el compost quedó distribuido a lo largo del surco. La actividad se realizó de la misma forma para las parcelas con compost en el tratamiento AV+C.

#### **1.7.4.4 Siembra de maíz**

Dos semanas después de adicionar el AV compuesto por *C. ensiformis* (8 kg) y *A. scoparius* (17.5 kg)/ parcela respectiva se sembró el maíz, a una distancia de 0.80 m entre surcos y 0.25 m entre plantas; con un total de 50.000 plantas/ha. Densidad de siembra recomendada por el ministerio de agricultura y FENALCE, (1991), Granada *et al.*, (2008), y comúnmente empleada por los agricultores en esta zona, según indicaciones del propietario de la finca, Ingeniero Adolfo Carvajal.

Se sembró la variedad ICA V-305 nativo, con características como: raíz profunda, aproximadamente 15 hojas por planta, altura intermedia de 234 cm, granos de color amarillo intenso y tamaño mediano, rendimientos de 4.500 a 5.500 kg/ha, adaptable de 0 a 1.600 m.s.n.m., periodo vegetativo de 160 a 170 días en zonas de ladera.

La siembra se realizó en forma directa depositando 3 semillas por sitio, las cuales fueron pre-germinadas por un periodo de 72 horas, sistema de siembra establecido en el ensayo con el fin de tener suficientes plantas a muestrear en la parcela útil y minimizar el efecto de bordes con las plantas ubicadas en los límites del lote, sin embargo, por factores edáficos y climáticos fue necesario hacer dos resiembras para establecer el cultivo. Pasando 15 días después de la adición de los AV.

Se establecieron tres bloques o repeticiones distanciados a 1.4 m entre sí, compuestos por 5 unidades experimentales. Cada unidad experimental comprendió 5 surcos separados entre sí por una distancia de 0.6 m. El área total ocupada por el ensayo fue 220.52 m como se dijo con anterioridad.

### 1.7.4.5 Manejo agronómico de parcelas

Exceptuando el tratamiento con AV, para los tratamientos se siguió el plan de fertilización química efectuado durante la fase I (Tabla 6), recomendado por Campuzano y Navas (2007); N en forma de urea 30% al sembrar, 35% a los 20 días después de la germinación (ddg) y 35%, a los 45 días; P 100% a la siembra, en forma de DAP; K 70% a la siembra y 30% a los 20 (ddg) en forma de KCl.

**Tabla 6.** Plan de fertilización para los respectivos tratamientos.

Tratamiento	Época de aplicación	Tipo de Fertilizante		Dosis total aplicada (g/ parcela)	Dosis por planta (g)	Forma de aplicación
		Síntesis industrial	Orgánico			
<b>T2 Químico</b>	Paralelo a la siembra.	10-30-10	.....	250 g	4 g/ planta	Incorporado al suelo por sitio
	25 días después siembra.	Urea KCl 10-30-10	.....	250 g 250 g 150 g	5 g/ planta 5 g/planta 3 g/planta	
	45 días después siembra	Urea	.....	150 g	3 g/planta	
<b>T3 AV</b>	Previo a la siembra.	.....	Abonos verdes	3000 g	Distribuido en toda la parcela	Adicionado a la superficie del suelo
<b>T4 C</b>	Paralelo a la siembra.	.....	Compost	6000 g	120 g/ planta	Incorporado al suelo por sitio
<b>T5 C +AV</b>	Previo a la siembra	.....	Abonos verdes y compost	9000 g	AV en toda la parcela y C 120 g/ planta	AV adicionado al suelo y C incorporado al suelo

Para la adecuación de las parcelas experimentales se procedió a realizar control manual de arvenses o vegetación espontánea con el fin de disminuir competencia para el cultivo,

conservar humedad en el suelo y contribuir a la devolución parcial de los nutrientes tomados por estas plantas al dejar el material cortado en cada parcela.

En cada planta de maíz se realizó control manual y control biológico con aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* para *Spodoptera frugiperda*. Smith (cogollero), plaga limitante, cuyo mayor ataque se presenta en las hojas tiernas del cultivo. Según Negrete y Morales (2003), es la plaga de mayor importancia económica en muchos cultivos de nuestro país, pero muestra una mayor preferencia por el cultivo del maíz.

#### 1.7.4.6 Toma de muestras

Este proceso se llevó a cabo de acuerdo con la variable evaluada y una vez el maíz desarrolló raíces, la distribución de los muestreos se programó para tres épocas según el ciclo fenológico del cultivo de maíz (Tabla 7).

**Tabla 7.** Muestreo efectuado de acuerdo con las variables evaluadas.

Variable \ Etapa	Vegetativa 30 dds	Floración 91 dds	Llenado de granos 140 dds
Concentración de fracciones de N	X	X	X
Población de BOA y BON	X	X	X
% (CT) de HMA	X	X	X
% (MV) de HMA	X	X	X
Longitud de (ME) de HMA	X	X	X

## 1.8 Fase de Laboratorio: Análisis y evaluación de muestras

Comprendió diferentes metodologías de análisis en laboratorio según la variable a analizar como se aprecia en la Tabla 8. La actividad biológica se evaluó a través de componentes de HMA, poblaciones de bacterias nitrificantes pruebas bioquímicas y (NMP), y la dinámica del nitrógeno mediante pruebas químicas. Se siguieron metodologías referenciadas en otros trabajos de investigación.

**Tabla 8.** Metodologías aplicadas para el análisis y evaluación de variables propuestas en el ensayo.

<b>VARIABLES</b>	<b>componente</b>	<b>Metodología</b>
<b>Dinámica de nitrógeno en el suelo estudiado</b>	Nitrógeno inorgánico ( $\text{NH}_4^+$ + $\text{NO}_3^-$ )  Nitrógeno orgánico  Nitrógeno total	Colorimetría espectrofotómetro en KCl 1M CIAT (2006), según protocolos de la SSSA (1986).   Método colorimétrico por Molibdato de amonio CIAT (2006), según protocolos de la SSSA (1986).
<b>Dinámica de bacterias nitrificantes</b>	Presencia y cuantificación de bacterias nitrificantes	Método del número más probable NMP, Schmidt y Belser (1994). Diluciones sucesivas, modificado por Rodríguez <i>et al.</i> , (2007).  <b>Pruebas bioquímicas para cuantificación</b>

	<p>Presencia y cuantificación de bacterias nitrificantes</p>	<p>Pruebas <i>Reactivos Griess-Ilosvay modificado</i> Schmidt y Belser (1994).</p> <p><b>A. Reactivo Diazotizante.</b></p> <p>0.5 g de Sulfanilamida en 100 ml de HCl 2.4N.</p> <p><b>B. Reactivo Acoplante.</b></p> <p>0.3 g de N-(1-naphthyl) Ethylenediamine hydrochloride en 100 ml de HCl 0.12N.</p> <p><b>C. Reactivo colorante Nitrito</b></p> <p>Coloración nitrito Difenilamina + ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.</p>
<p><b>Dinámica de HMA</b></p>	<p>Porcentaje de colonización (CT).</p> <p>Micelio externo vivo y activo (ME)</p> <p>Longitud de micelio externo (ME).</p>	<p>Sierverding (1983), modificada e individualizada para cuantificar estructuras de HMA (micelio interno, arbusculos y vesículas).</p> <p>Hamel <i>et al.</i>, (1990), modificada según protocolo del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Santa Cruz de Tenerife, España (2007), autores y protocolos citados en Sánchez de P., <i>et al.</i>, (2010)</p> <p>Técnica del filtro de membrana y método del intercepto (gridline) de Miller y Jastrow (1992), y cálculos de Tennant (1975), autores y protocolos citados en Sánchez de P., <i>et al.</i>, (2010).</p>

### 1.8.1 Dinámica del N en el suelo estudiado

Para determinar N inorgánico (N<sub>i</sub>) se tomaron muestras de suelo de 100 g, siguiendo el protocolo anterior para nitrificantes de acuerdo a lo descrito por McNeill y Unkovich (2007). Estos análisis se efectuaron en el laboratorio de servicios analíticos del CIAT.

Teniendo en cuenta la sensibilidad y la alta variabilidad de los contenidos de N en los suelos, las muestras se tomaron, en un periodo de tiempo (no mayor a una hora debido a la sensibilidad del nitrógeno a la volatilización), siguiendo el mismo protocolo de almacenamiento y refrigeración del suelo para aislar bacterias nitrificantes.

Para la evaluación de los contenidos de nitrógeno amoniacal ( $\text{NH}_4^+$  - N) y nitrógeno nítrico ( $\text{NO}_3^-$  - N), en CIAT se usó el método de la extracción con una solución de cloruro de potasio 1M (SSSA, 1986) y luego se analizaron los extractos por colorimetría en un espectrofotómetro (Tabla 5).

El uso de cloruro de potasio 1M como solución extractora no promueve reacciones químicas o biológicas que provoquen cambios en las cantidades de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  intercambiables, no presenta ninguna interferencia y es compatible con otros métodos de análisis utilizados y además el extracto puede almacenarse seguramente por varios días antes del análisis, en caso necesario y en general, es un método relativamente simple y rápido (Page *et al.*, 1982).

### 1.8.1.1 Tasa de Mineralización Neta de N

Esta variable se define como la diferencia entre los contenidos finales e iniciales de N inorgánico del suelo en campo ( $\text{NH}_4^+$  +  $\text{NO}_3^-$ ) en un intervalo de tiempo, la cual se puede expresar en unidades de mg de N  $\text{Kg}^{-1}$  día<sup>-1</sup>, bajo la siguiente fórmula:

$$N_{\text{mineralizado}} = \frac{[(\text{Nitratof} + \text{Amoniof}) - (\text{Nitratoo} + \text{Amonioo})]}{T_{\text{días}}}$$

Tomado de Gallego (2012).

Donde:

- $N_{\text{mineralizado}}$  = Contenido de N mineralizado ( $\text{mg/Kg}^{-1}$  día<sup>-1</sup>)
- $N_f$  = Concentración final de  $\text{NO}_3^-$ , (mg/Kg suelo).
- $A_f$  = Concentración final de  $\text{NH}_4^+$ , (mg/Kg suelo).

- $N_0$  = Concentración inicial de  $\text{NO}_3^-$ , (mg/Kg suelo).
- $A_0$  = Concentración inicial de  $\text{NH}_4^+$ , (mg/Kg suelo).
- $T_{\text{días}}$  = Tiempo transcurrido entre ambos muestreos.

En cada tratamiento se calcularon las tasas de mineralización neta puntual de acuerdo a la diferencia en tiempo entre los periodos fenológicos evaluados para el cultivo de maíz: T1= 40 días (semana 4 - siembra), T2= 63 días (semana13 - semana 4), T3 = 63 días (semana 20 - semana13).

### 1.8.1.2 Tasa de Nitrificación Neta

Esta medida relaciona la cantidad de ( $\text{NO}_3^-$ ) acumulado en el suelo en un intervalo de tiempo, y se expresa bajo la siguiente fórmula:

$$N_{\text{nitrificado}} = \frac{(\text{Nitrato}_f - \text{Nitrato}_0)}{T_{\text{días}}}$$

Tomado de Gallego (2012).

Donde:

- $N_{\text{nitrificado}}$  = Contenido de N nitrificado ( $\text{mg/Kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$ )
- $N_f$  = Concentración final de  $\text{NO}_3^-$ , (mg/Kg suelo).
- $N_0$  = Concentración inicial de  $\text{NO}_3^-$ , (mg/Kg suelo).
- $T_{\text{días}}$  = Tiempo transcurrido entre ambos muestreos

Para calcular esta variable se tomó la diferencia entre el  $\text{NO}_3^-$  hallado en dos etapas fenológicas del cultivo de maíz: llenado de granos (semana 20) y vegetativa (semana 4).



## 1.8.2 Dinámica de Bacterias Nitrificantes

### 1.8.2.1 Aislamiento de Bacterias Nitrificantes.

Para aislar bacterias nitrificantes se usaron 2 medios de cultivo: caldo amonio y caldo nitrito y se siguió la metodología del número más probable NMP de Schmidt y Belser (1994) con diluciones sucesivas, modificado por Rodríguez y Moreno *et. al.*, (2007). (Anexo D).

La realización del aislamiento requirió 100 g de muestras compuestas por suelo proveniente de diferentes puntos de la unidad experimental a una profundidad de 5 cm. El mismo procedimiento se realizó para las muestras correspondientes a los análisis para N. El suelo se colectó en bolsas plásticas auto sellables y se trasladó al laboratorio de Microbiología vegetal de la Universidad Nacional de Colombia en nevera de icopor a 4 °C. Se realizaron diluciones seriales e inoculación en medios selectivos de cultivo (Figuras 9 y 10).

### 1.8.2.2 Presencia y cuantificación de bacterias nitrificantes

Como se mencionó anteriormente, en el proceso de nitrificación actúan bacterias nitrificantes conformadas por los grupos BOA y BON. Para conocer la actividad puntual y detectar la presencia de  $\text{NO}_2^-$  originado por la acción oxidativa de BOA a partir de  $\text{NH}_4^+$ , se realizó la prueba de Griess-Llosvay con reactivo diazotizante y reactivo acoplante, indicador que se tornó de color fucsia para tubos positivos. Para observar la presencia de  $\text{NO}_3^-$  producto de la actividad oxidativa de BON a partir de  $\text{NO}_2^-$ , se realizó la prueba de colorante nitrato o prueba de la difenilamina, adicionando reactivo colorante nitrato cuyo indicador es el color azul oscuro en forma de precipitado para tubos positivos. Es de tener en cuenta que coloraciones extremadamente tenues en ambas pruebas pueden parecer como negativas debido a la presencia de nitrito en cantidades trazas insuficientes para desarrollar el complejo Azo de coloración fuerte y estable. De igual modo, en algunos casos, la ausencia o debilidad del color se debe a que las BOA realizaron su trabajo oxidativo del amoníaco hasta  $\text{NO}_2^-$ , pero en algunas ocasiones, las

BON pueden sobrevivir en el mismo medio de cultivo, tomando este ion y oxidándolo hasta  $\text{NO}_3^-$ , limitando la presencia de trazas que puedan reaccionar con el complejo Azo (Schmidt y Belser 1994; Gallego, 2012).

Para las respectivas lecturas y cuantificación de poblaciones se empleó el software conocido como **MPNes**®, diseñado por los profesores Paul Woormer (NifTAL Project), James Bennett (Departamento de Matemáticas) y Russell Yost (Departamento de Agronomía y Ciencias del suelo) de la Universidad de Hawaii, USA (1990). Este software fue proporcionado por el laboratorio de Biología de suelos del CIAT, Dra. Neuza Asakawa, permitiendo conocer los resultados expresados en UFC  $\text{gramo}^{-1}$  suelo húmedo y por medio de correcciones de humedad finalmente se obtienen los datos expresados en unidades UFC  $\text{gramo}^{-1}$  suelo seco.

**Figura 9.** Secuencia parcial de procesos para aislamiento y cuantificación de bacterias nitrificantes: (A) recolección de suelo *in situ*; (B) tamizaje y peso por tratamientos; (C y D) frascos dilutores con solución buffer fosfato para diluciones seriales  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ; (E y F) medios selectivos de cultivo para BOA y BON.



**Figura 10.** Técnica de NMP. (G, H) aislamiento e incubación de BOA y BON; (I) aislamientos previos a pruebas indicadoras diazo y nitrato; (J) reactivos diazo, acoplante y colorante nitrato; (K) presencia de BOA y BON; (L) software MPNes ® para cuantificación de bacterias nitrificantes.



## **Dinámica de HMA**

### **1.8.2.3 Metodologías para evaluar componentes de HMA**

Las diferentes metodologías para observar la presencia de la simbiosis y de las estructuras de los HMA, contemplan que las muestras se sometan a: A) clareamiento, B) blanqueo, C) acidificación, D) tinción y E) eliminación de excesos de colorante (Bevege, 1968; Kormanik y Mc Graw, 1982; Brundrett *et al.*, 1984; Brundrett; Melville y Peterson, 1994; Phillips y Hayman, 1970; González, 1993; Vierheilig *et al.*, 1998; Sánchez de P., 2003). Los detalles del protocolo se describen en los anexos F, G y H, siguiendo la metodología recopilada por Sánchez de P., *et al.*, 2010.

### **1.8.2.4 Porcentaje de Colonización Total (CT) por HMA**

Esta metodología propuesta por Sierverding (1983) y recopilada en Sánchez de P. *et al.*, (2010), junto con la técnica de tinción con tinta en vinagre propuesta por Vierheiling *et al.*, (1998), se empleó para observar y cuantificar por medio de tinciones y microscopía la presencia de (MA), micosimbionte con potencial de absorción e intercambio de nutrientes en las células corticales del hospedero. (Figura 11), cuyos detalles de este método se explican en el Anexo F.

### **1.8.2.5 Tinción Vital de Micelio Vivo y Activo (MV) de HMA**

Micelio externo vivo y activo: Se trata de una tinción vital con fuscina ácida (Figura 12), basada en la estimación de la actividad de la succinato – deshidrogenasa, dentro del micelio interno y externo de HMA, complejo enzimático que hace parte del ciclo de Krebs. Se realizó siguiendo la metodología de Hamel *et al.*, (1990) y adaptado por el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Santacruz de Tenerife, España (2007), recopilada en Sánchez de P. *et al.*, (2010). Los detalles metodológicos se describen en el Anexo G.

#### **1.8.2.6 Extracción y Cuantificación de Micelio Externo (ME) total de HMA**

Esta técnica del filtro de membrana Miller y Jastrow, (1990), modificada por Torres (2000), (Figura 13) se aplicó para cuantificar las redes miceliales que establecen los HMA, proyectadas desde la raíz para favorecer la absorción de nutrientes del suelo, actuando como puente entre las zonas de disponibilidad del fósforo, agua otros nutrientes hasta la raíz. Los detalles metodológicos se describen en el Anexo H.

**Figura 11.** CT de HMA. Pasos representativos de la técnica de tinción con tinta en vinagre: (A). recolección y almacenamiento de raíces; (B, C, D) reactivo KOH y clareamiento de raíces; (E) tinción con tinta Sheaffer; (F) raíces teñidas y codificadas para conteos.



Fotos: Vergara, 2012

**Figura 12.** Algunas etapas de la técnica de tinción de MV con fucsina ácida: (A, B) recolección de raíces; (C, D) incubación de raíces en oscuridad; (E, F) tinción de raíces y montaje de placas.





**Figura 13.** Pasos para la técnica de tinción de ME: (A) preparación de suelo; (B, C, D) dispersión del suelo para extraer ME; (E) tinción y filtración al vacío de micelio; (F) Filtro millipore de 1.2 micras con micelio teñido previo a la observación con objetivo 20x.



### **1.8.3 Análisis de información**

La información obtenida en torno a las variables evaluadas a nivel de tratamientos y épocas de evaluación en el ensayo, se sometió a análisis de varianza (ANDEVA), mediante el programa estadístico SAS (versión 9,3 año 2013). En aquellos casos donde se detectaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) se hizo prueba de promedios múltiples de Tukey para agrupar a los tratamientos o épocas que tuvieron mayor aporte a la variabilidad de los datos. Se establecieron correlaciones de Pearson con nivel de significancia ( $P \leq 0.05$ ) entre las variables evaluadas para dinámica del N, dinámica de bacterias nitrificantes y componentes de HMA.

## Capítulo 4: Resultados y Discusión

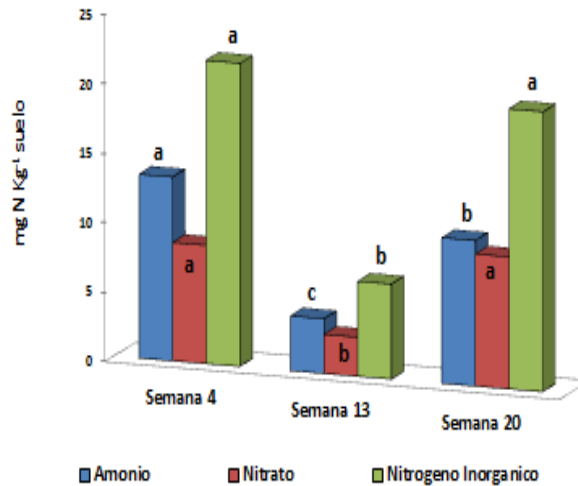
### 1.9 Dinámica del N en el suelo

#### 1.9.1 Nitrógeno inorgánico $N_i$ ( $NH_4^+$ + $NO_3^-$ )

En el ANDEVA se encontró que de las fuentes de variación estudiadas: tratamientos, épocas, repeticiones y sus interacciones, para la fracción de  $N_i$  ( $NH_4^+$  +  $NO_3^-$ ) sólo se hallaron diferencias altamente significativas en las épocas de muestreo (Anexo I: A, B, C).

La mayor concentración de  $NH_4^+$  ( $13.2 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) se alcanzó en la semana 4 del cultivo de maíz (30 dds), correspondiente a la etapa vegetativa y la menor ( $3.9 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) en la semana 13 del cultivo de maíz (91 dds), correspondiente al periodo de floración (Figura 14). En contraste con  $NH_4^+$ , la mayor concentración de  $NO_3^-$  ( $9.47 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) se halló en la semana 20 del cultivo (140 dds), durante el llenado de granos y la más baja ( $2.8 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) en la semana 13 (Figura 14). La concentración más alta de  $N_i$  ( $21.8 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) se alcanzó en la etapa vegetativa del cultivo y la menor ( $6.8 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) en la floración.

**Figura 14.** Concentración de  $N_i$  ( $NH_4^+$  +  $NO_3^-$ ) en tres épocas de evaluación del cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

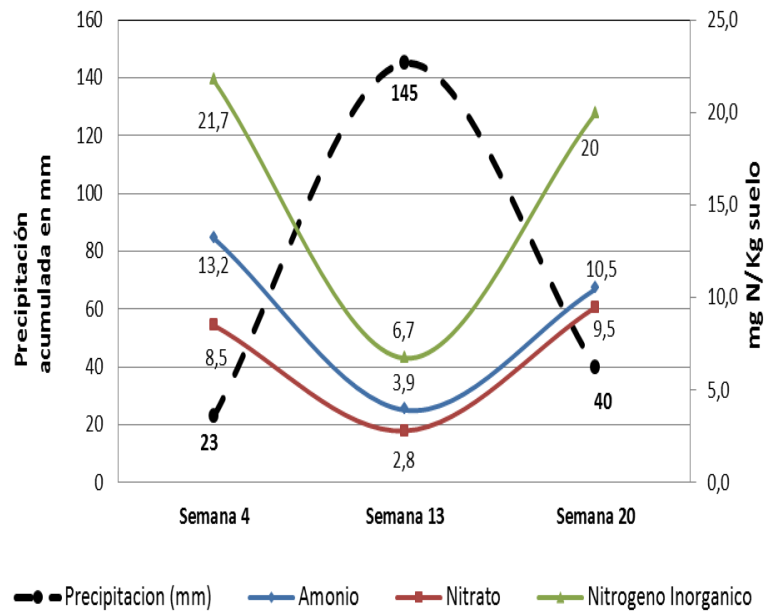


Cobo *et al.*, (2002), hallaron un comportamiento similar en sus investigaciones, afirmando que las mayores producciones de  $N_i$  se logran entre 2 y 4 semanas después de incorporar o adicionar los AV al suelo. Douchamps *et al.*, (2011) y Gallego (2012), justifican el incremento de  $N_i$  en esta etapa por acción del efecto “priming” que ocurre con la adición materia orgánica fresca. Coyne (2000), Sullivan, (2003), Brady y Weil (2004), Sylvia, *et al.*, (2005) y Clark (2007), definen este efecto estimulante como el resultado conjunto de la temperatura, la humedad del suelo, la especie vegetal adicionada, la relación C/N y la actividad microbiana para liberar y suministrar minerales al suelo y a los cultivos de rotación en respuesta a la abundancia de sustratos orgánicos frescos adicionados al sistema, tal como ocurre con los AV.

Las bajas concentraciones de  $NH_4^+$  y  $NO_3^-$  encontradas en la semana 13 del cultivo de maíz están relacionadas negativamente con la copiosa precipitación acumulada para esa época de evaluación (Figura 15), corroborando lo citado por Brady y Weil (2002) con respecto al exceso de humedad, acompañado de disminución de temperatura ambiental,

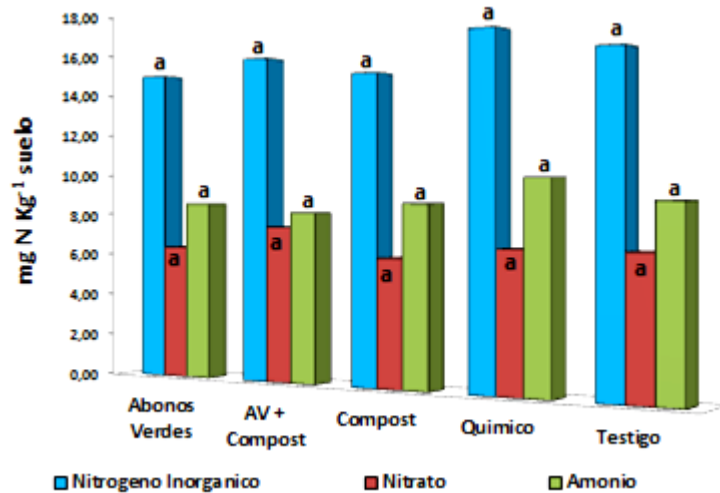
factores que afectan negativamente la mineralización de la materia orgánica en general y del N en particular.

**Figura 15.** Relación entre precipitación y contenidos de  $N_i$  ( $NH_4^+ + NO_3^-$ ) en tres épocas de evaluación del cultivo de maíz.



Sin diferencias significativas en los tratamientos (Figura 16), la concentración de  $NH_4^+$  osciló entre FQ ( $9.82 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) y AV+C ( $8.17 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ), presentando valores similares en los tratamientos. En cuanto al  $NO_3^-$  en AV + C se incrementó hasta  $7.48 \text{ mg N Kg}^{-1}$  y disminuyó en AV ( $6.83 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) y C ( $6.42 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ). Para  $N_i$  la mayor concentración se halló en FQ ( $16.56 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ), seguido de AV + C ( $15.66 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ) y la más baja en C ( $14.74 \text{ mg N Kg}^{-1}$ ).

**Figura 16.** Concentración de  $N_i$  ( $NH_4^+$  +  $NO_3^-$ ) en los tratamientos evaluados durante el ciclo de cultivo de maíz.

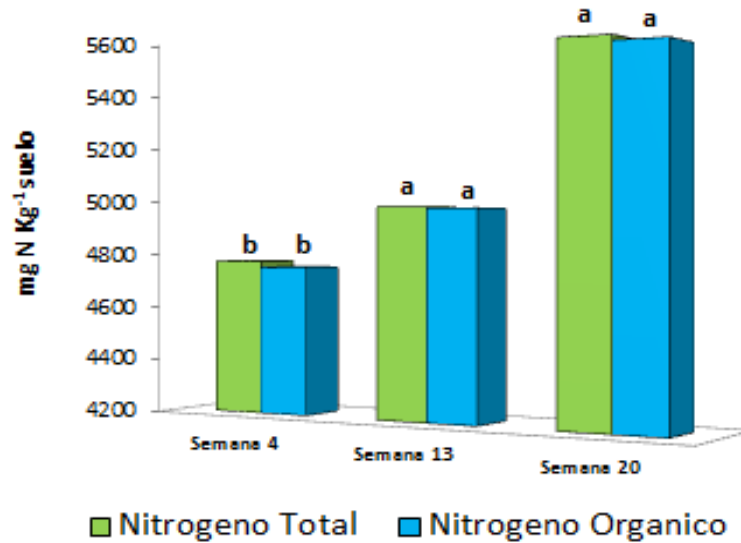


Los resultados obtenidos en T pese a carecer de fertilización alguna, no variaron del resto de tratamientos y señalan las diversas estrategias que ocurren en el suelo por acción de los microorganismos para fijar  $N_2$  y aprovechar progresivamente los reservorios del N a través del tiempo comprendidos por la materia orgánica propia del suelo, la biomasa microbiana y la fitomasa del cultivo y arvenses, fuentes disponibles del nutriente y alternas a los fertilizantes adicionados en todos los tratamientos.

### 1.9.2 Nitrógeno orgánico y total ( $N_{org}$ y $N_t$ )

El ANDEVA mostró diferencias significativas para  $N_{org}$  y  $N_t$  durante las épocas de evaluación (Anexo I - D y E), alcanzando progresivamente la mayor concentración (5538.2 y 4773.9 mg N Kg<sup>-1</sup>) para  $N_{org}$  y, (5558.3 y 4972.2 mg N Kg<sup>-1</sup>) para  $N_t$  entre las semanas 13 y 20 del cultivo. (Figura 17).

**Figura 17.** Concentración de  $N_{org}$  y  $N_t$  en tres épocas de evaluación del ciclo de cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

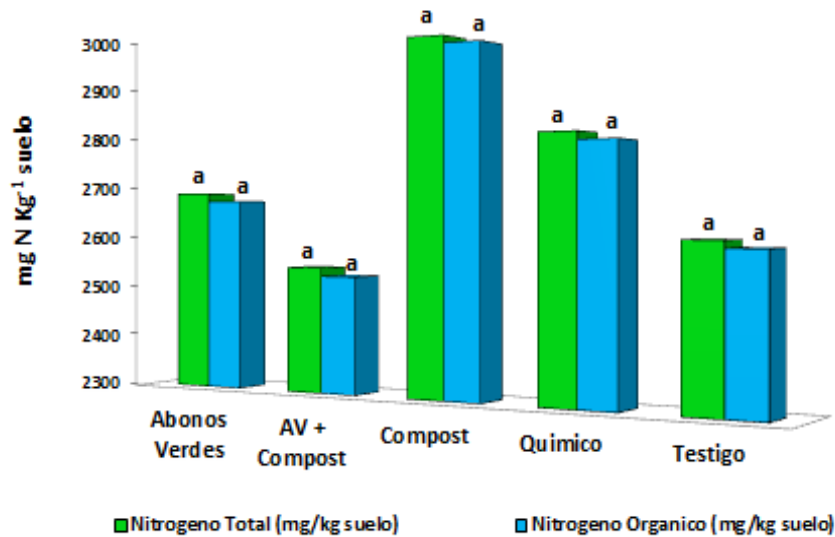


Estos resultados corroboran que la mayor fuente de N en el suelo se halla en forma de  $N_{org}$ , y que es la mineralización la actividad metabólica que marca la diferencia permitiendo la mayor o menor disponibilidad del nutriente en forma de  $N_i$  como se pudo corroborar en la variable anteriormente analizada. El incremento progresivo de esta variable, fue consecuente con el crecimiento en biomasa del cultivo arriba y abajo del suelo, lo cual se manifestó en la medida que hubo aporte de materia orgánica por parte del cultivo, de las arvenses y de los diversos organismos del suelo.

Los valores de  $N_i$  superaron a los hallados por Cobo *et al.*, (2002), en un Inceptisol en el norte del Cauca (3000 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo) y por Ararat (2006), en un Inceptisol en el sur del Valle del Cauca (4000 mg N Kg<sup>-1</sup>), suelos ubicados a menor altura sobre el nivel del mar que el evaluado en este ensayo. Resultados que evidencian la influencia de la altitud y el manejo del suelo sobre la acumulación de materia orgánica y la mineralización de la misma en función de las ganancias y reservas de N en el suelo.

Sin diferencias significativas entre tratamientos, la concentración de  $N_{org}$  y  $N_t$  se expresó más en C y FQ (5205.3 y 5251,2 mg N Kg<sup>-1</sup>) para  $N_{org}$  y (4972.0 y 4989,8 mg N Kg<sup>-1</sup>) para  $N_t$ , a diferencia de AV + C que obtuvo la menor concentración (4743,5 mg N Kg<sup>-1</sup> y 4760,3mg N Kg<sup>-1</sup>) (Figura 18).

**Figura 18.** Concentración de  $N_{org}$  y  $N_t$  entre épocas de evaluación del ciclo de cultivo de maíz.



La diferencia entre los contenidos de  $N_t$  y  $N_{org}$  hallados bajo la adición e incorporación de materiales orgánicos, registrados en su orden C, AV y AV + C radica en las relaciones C/N de los materiales solos y en combinación con respecto a su velocidad de descomposición y liberación de nutrientes en forma mineral.

Los incrementos de  $N_t$  y  $N_{org}$  hallados en C confirman diferentes registros sobre el compost como un material bastante estable que se va degradando lentamente, garantizando un remanente adicional de nutrientes a mediano y, tal vez a largo plazo. Gallego (2012) sostiene que “con un abono previamente estabilizado, se eleva la relación C/N, disminuyendo su tasa de mineralización en el suelo. En otras palabras, al aumentar

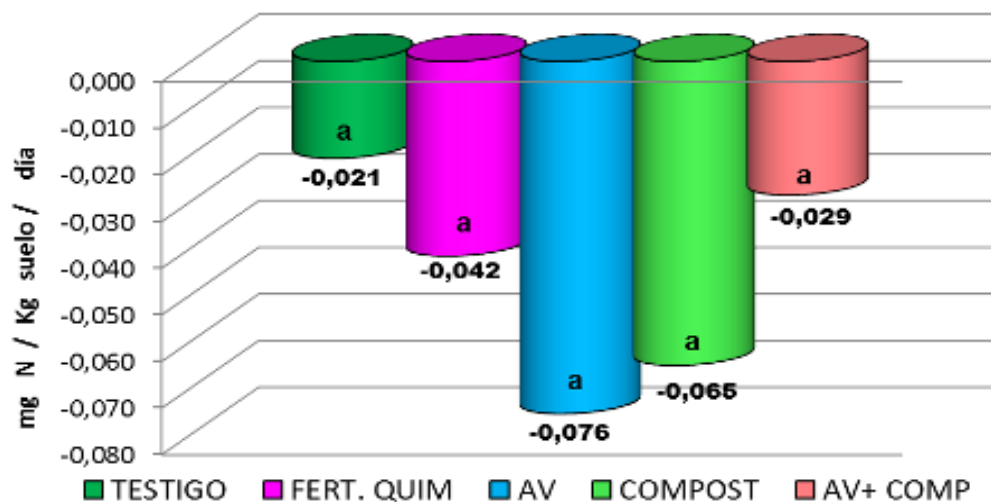


la relación C/N el material se mineraliza lentamente, disminuyendo la producción rápida de  $N_i$ , pero garantizando el suministro de N en el tiempo”, cabe mencionar que aunque el compost fue la principal fuente de N para este tratamiento, la concentraciones de  $N_t$  y  $N_{org}$  no obedecen estrictamente al contenido de N de la fuente, pero sí a su estímulo en la dinámica del N en el suelo a través del tiempo, la cual está regida por otras ganancias de N, la actividad microbiana y factores edafo – climáticos. Dinámica que de acuerdo a estas condiciones se puede traducir en altos o bajas concentraciones de N al momento del muestreo.

### 1.9.3 Tasa de Mineralización Neta de N.

El ANDEVA no mostró diferencias significativas a nivel de tratamientos. Los valores observados indican que el consumo promedio de N mineralizado superó al producido, es decir, el agroecosistema hizo uso de reservas existentes previamente. En orden descendente el gasto de N mineralizado ocurrió en AV, C, FQ, AV + C y T (Figura 19).

**Figura 19.** Tasa de mineralización neta total de N en los tratamientos durante el ciclo de cultivo de maíz.



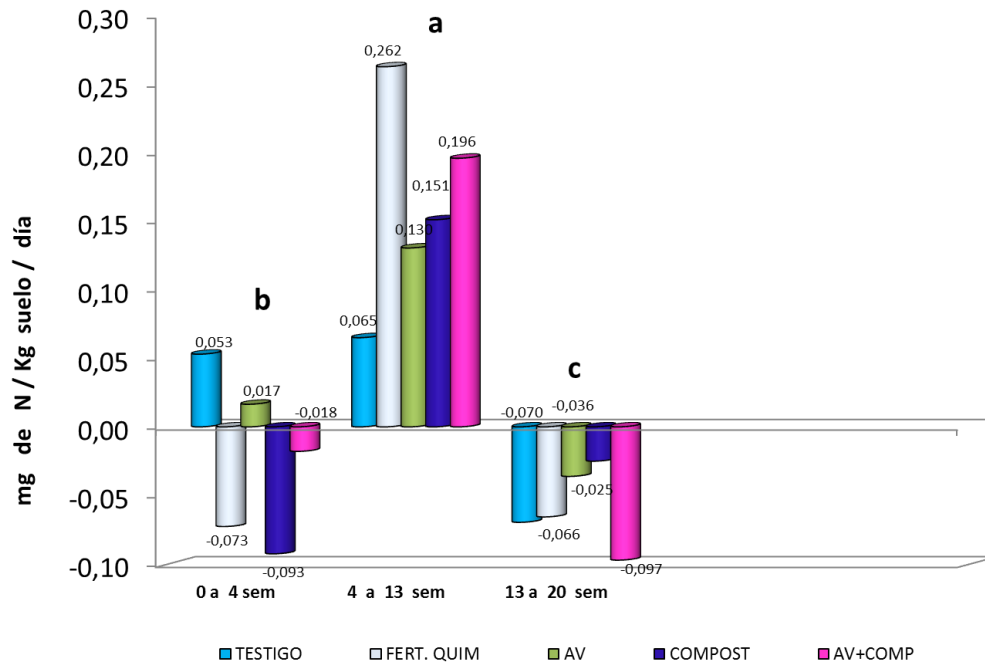
Con respecto a los resultados obtenidos Gallego (2012), afirma que “el valor negativo no es sinónimo de un proceso de mineralización ausente; este valor indica que al momento de tomar las muestras de suelo el gasto de N<sub>i</sub> superó a las reservas de este en sistema suelo-planta”. Neill *et. al.*, (1997), en ensayos con gramíneas también reportaron valores negativos de tasas de mineralización neta total de N (-0.51 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo día<sup>-1</sup>).

Esta situación podría explicarse en función de las demandas del mismo cultivo y de la vegetación espontánea, además de la inmovilización por microorganismos y pérdidas por vías como la desnitrificación, reducción desasimilatoria, lixiviación, escorrentía y volatilización por acción de la precipitación y la topografía entre otras características del suelo y la zona. Los déficits encontrados en AV pueden explicarse de acuerdo con Martín y Rivera (2004); Cabrera (2007) y Gallego (2012), con base en el hecho que en suelos tropicales la velocidad de mineralización de los AV aumenta en condiciones de mayor humedad y temperatura. Sin embargo, un exceso en la humedad del suelo propicia la salida del N mineralizado de forma rápida, vía volatilización, lixiviación y/o escurrimiento, en muchos casos, antes de ser aprovechado por el cultivo de rotación.

#### **1.9.4 Tasas de Mineralización Neta Puntuales de N.**

El ANDEVA mostró diferencias altamente significativas entre las épocas de evaluación (Anexo I - G). Las mayores tasas de mineralización neta puntual promedio (0.219 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo día<sup>-1</sup>) se presentaron en el intervalo ocurrido desde la etapa vegetativa hasta la floración, y el mayor gasto promedio de N mineralizado (-0.220 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo día<sup>-1</sup>) entre la floración y el llenado de granos (Figura 20).

**Figura 20.** Tasas de mineralización neta puntuales entre muestreos. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).



Aunque se conservó la tendencia observada en las tasas de mineralización neta total, en esta variable los resultados muestran de forma detallada el flujo del Ni en cortos periodos de tiempo desde la adición de las fuentes nutricionales hasta el llenado de granos del maíz.

Hasta la semana 4 del cultivo en AV y T la ganancia de N mineralizado sobrepasó al consumo, aportando N disponible al agroecosistema, contrastando con FQ y C, el primero caracterizado por provenir de una fuente altamente disponible y el segundo, de un material estabilizado, tratamientos en los cuales predominó el gasto.

Entre las semanas 4 y 13 del cultivo la tasa de mineralización puntual fue alta gracias a la materia orgánica activa, la cual aumentó las reservas de  $N_i$  en el agroecosistema. El alto

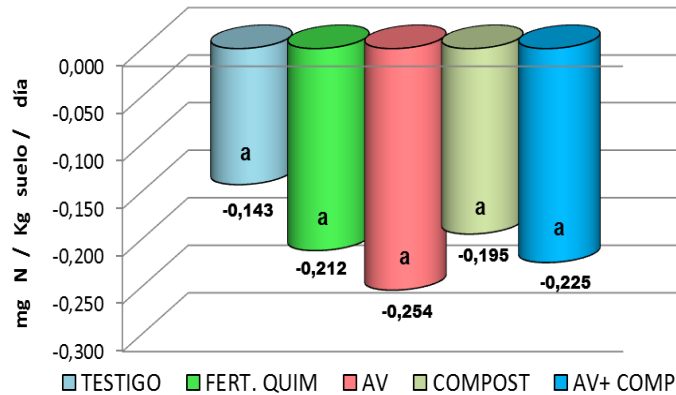
aporte de  $N_i$  hallado en FQ se puede explicar por la aplicación de la dosis del fertilizante correspondiente al periodo entre 25 y 45 días.

La tendencia observada en este periodo de tiempo coincide con Dinesh y Dubey, (1998); Sylvia et al., (2005); Barrios y Basso, (2012) y Gallego, (2012), quienes registraron mayores tasas de mineralización después de la adición e incorporación de las fuentes nitrogenadas, especialmente materiales orgánicos.

El mayor gasto de N mineralizado observado desde la floración hasta el llenado de granos está relacionado con la baja de  $N_i$  registrada en esta época. Los resultados evidencian que aunque existe la oferta permanente de  $N_{org}$  para ser metabolizado en  $N_i$ , las condiciones para este proceso pueden desmejorar por factores edáficos, climáticos y topográficos, como ocurrió por acción de la precipitación. Además de lo anterior, un factor íntimamente ligado al gasto de N, es el crecimiento del cultivo y los requerimientos progresivos para generar biomasa. Según Martín y Rivera (2004), el N mineralizado disminuye conforme aumenta la edad de las plantas en términos de días después de la germinación.

Sin diferencias significativas en los tratamientos para las tasas promedio de mineralización neta puntual es el mayor déficit de N mineralizado ( $-0,254 \text{ mg N Kg}^{-1} \text{ suelo día}^{-1}$ ) se presentó en AV, seguido de FQ ( $-0,2124 \text{ mg N Kg}^{-1} \text{ suelo día}^{-1}$ ) y AV + C ( $-0,225 \text{ mg N Kg}^{-1} \text{ suelo día}^{-1}$ ) y los menores gastos ( $-0,143 \text{ mg N Kg}^{-1} \text{ suelo día}^{-1}$ ) correspondieron a T (Figura 21).

**Figura 21.** Tasas promedio de mineralización neta puntuales en los tratamientos durante el ciclo de cultivo de maíz.



La comparación entre la tasa de mineralización general por tratamientos y la discriminada por épocas, permite observar que aunque en forma puntual algunos tratamientos mostraron ganancias y salidas variables, el balance en conjunto, conserva la tendencia de que el consumo de  $N_i$  mineralizado supere su permanencia en el agroecosistema. Diferentes investigaciones han demostrado que el  $N_i$  no permanece disponible en el agroecosistema dada su alta movilidad (Brady y Weil, 2002; Philippot y Germon, 2005; Sylvia *et al.*, 2005; Mcneill y Unkovich, 2007; Sanclemente, 2009 y Gallego, 2012) aunado a las necesidades a suplir por el componente vivo (cultivo principal, arvenses, macro y microorganismos, entre otros). Esta dinámica se mantiene ya sea que el origen del nutriente sea mineral y/u orgánico. Orozco (1999) y Jaramillo (2002) han analizado la cualidad de los AV en algunos casos para suministrar y perder considerablemente  $N_i$  de forma semejante a los fertilizantes de síntesis industrial.

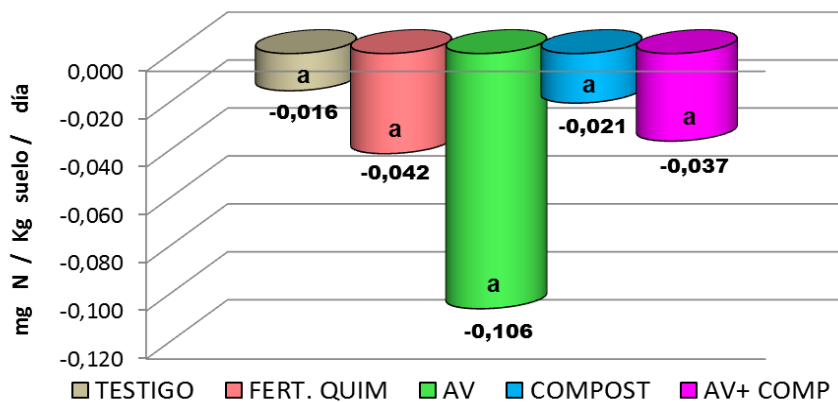
## Tasa de Nitrificación Neta

Sin diferir significativamente entre tratamientos (Figura 22), los resultados obtenidos en la tasa de nitrificación guardan coincidencia con las tasas de mineralización neta y puntal, presentando el mayor consumo de  $NO_3^-$  ( $-0.106 \text{ mg N Kg}^{-1} \text{ suelo día}^{-1}$ ) en AV, seguido

de FQ (-0.042 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo día<sup>-1</sup>) y el menor gasto en C (-0.021 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo día<sup>-1</sup>) y T (-0.016 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo día<sup>-1</sup>).

Los argumentos para explicar esta tendencia son los mismos explicados en la variable anterior.

**Figura 22.** Tasas de nitrificación neta en los tratamientos evaluados durante el ciclo de cultivo de maíz.



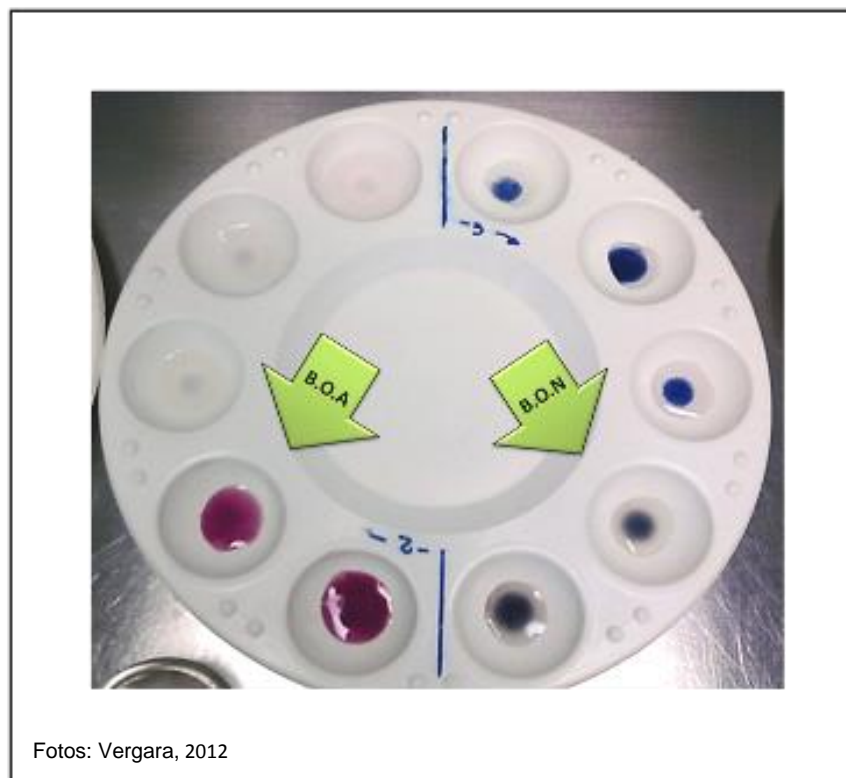
Aunque en los materiales orgánicos hubo la mayor concentración de  $\text{NO}_3^+$ , el consumo fue más pronunciado en AV. Además de la justificación de este consumo vía formación de biomasa del cultivo, el resto, constituiría pérdidas ligadas a la composición, solubilidad y movilidad de la molécula que le permite lixivarse a otros horizontes del suelo. Según Martín y Rivera (2004); Sylvia *et. al.*, (2005); Sanclemente (2009) y Gallego (2012), la rápida mineralización del  $\text{NO}_3^-$  se logra, pero muchas veces sin estar acoplada con las demandas del cultivo. Debido a la solubilidad del  $\text{NO}_3^-$  éste tiende a salir en mayor proporción del sistema suelo – planta. Martín y Rivera (2004), afirman que la adición regular de enmiendas orgánicas de forma similar a las fuentes de síntesis puede disminuir las deficiencias de N en el suelo, fortaleciendo la permanencia del nutriente en el agroecosistema.

## 1.10 Dinámica de Bacterias Nitrificantes

### 1.10.1 Presencia y cuantificación de bacterias nitrificantes

Los resultados obtenidos a partir de las pruebas bioquímicas diazo para los aislamientos incubados en los medios diferenciales mostraron la presencia de BOA y BON, según la coloración característica mencionada por Schmidt y Belser (1994) y Sylvia *et. al.*, (2005) para cada microorganismo y proceso de transformación de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  (Figura 23). El color violeta o morado indica la presencia de BOA y el azul, de BON.

**Figura 23.** Detección mediante colorimetría de la presencia de BOA (violeta) y BON (azul) en el suelo estudiado.

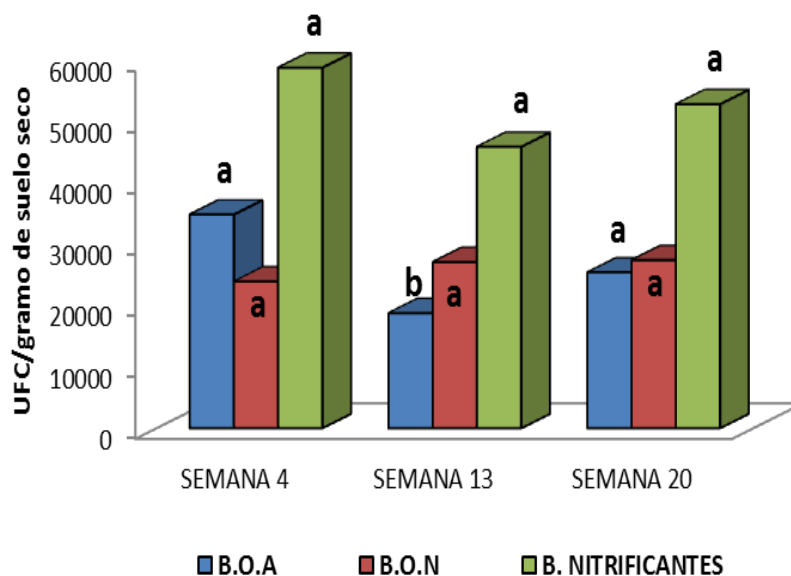


### 1.10.2 Poblaciones de BOA y BON

Para las bacterias nitrificantes el ANDEVA únicamente mostró diferencias significativas para BOA entre épocas de evaluación (Anexo I - I, J, K). BOA incrementó su número hasta 34917 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco en la semana 4, pero la población decreció hasta 18814 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco en la semana 13. (Figura 24).

BON también presentó la menor población en la semana 13, llegando hasta 23978 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco. Sin embargo, en la semana 20 la población presentó el mayor crecimiento (27467 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco). En conjunto, la población más alta de nitrificantes se halló en la semana 4, llegando hasta 58895 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco y como era de esperarse su número se redujo a 45965 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco en la semana 13 (Figura 24).

**Figura 24.** Poblaciones de bacterias nitrificantes (BOA y BON) estimadas en tres épocas del cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey (P≤0.05).





Las poblacionales halladas en este ensayo, coinciden con registros de De Boer y Kowalchuk (2001), quienes al trabajar con suelos ácidos usando el método MNP encontraron poblaciones de BOA en rangos de  $10^2$  a  $10^4$  UFC  $g^{-1}$  suelo seco, y poblaciones de BON en rangos de  $10^2$  a  $10^5$  UFC  $g^{-1}$  suelo. Según los autores estos rangos son inferiores a los normales registrados para la mayoría de los suelos agrícolas con pH ácido, sin embargo, coinciden con algunos rangos hallados en suelos neutros o con pH superior a 7, en los que proliferan más estas bacterias.

El aumento de BOA en la etapa vegetativa obedece a la abundancia de  $NH_4^+$ , sustrato obtenido como producto primario de la mineralización de la materia orgánica en el suelo, clave para el sustento y multiplicación de microorganismos nitrificantes (Rodríguez y Bermudez, 1979; Acero, 1997; Cobo *et al.*, 2002; Arp y Stein, 2003; Zornoza *et al.*, 2012)

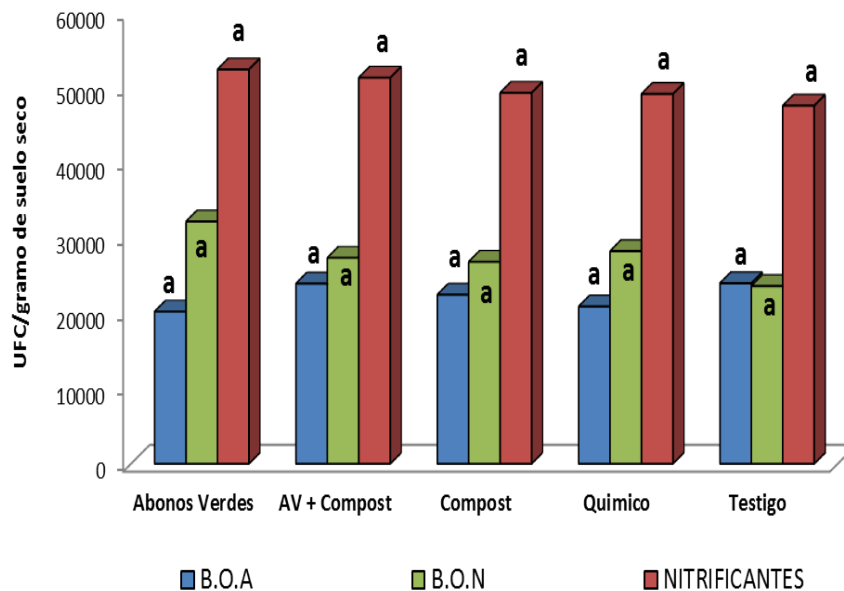
El crecimiento de BON a lo largo del cultivo estuvo relacionado la concentración de  $NO_3^-$  halladas en  $N_i$ , debido a que BON es responsable de producir  $NO_3^-$  como producto final de la nitrificación. (Krijmnei y Harms, 1982; Acero, 1997; Trinidad, 2006; Gallego, 2012). Las poblaciones halladas en los resultados a través del tiempo confirman registros de autores como Acero, (1997); Arp y Stein (2003) y Gallego (2012), sobre el incremento de BON para poder transformar la cantidad de  $NO_2^-$  producido por una menor población de BOA.

Como lo muestran las correlaciones (Anexo J) y anteriores resultados, la alta precipitación también contribuyó en la baja población hallada en la semana 13. Posiblemente, al afectar directamente las reservas de sustratos y oxígeno requeridos por BOA para su actividad metabólica y permanencia en el suelo hasta el punto de deprimir su número. Comportamiento que coincide con Suárez (1998); Brady y Weil (2002); Sylvia *et al.*, (2005); Ararat (2006) y Gallego (2012), sobre la gran sensibilidad de los nitrificantes a la humedad al inhibir y disminuir el ritmo y eficiencia de la nitrificación.

En los tratamientos la mayor población de BOA (23966 UFC  $g^{-1}$  suelo seco) se presentó en AV + C y las menores (20914 y 20240 UFC  $g^{-1}$  suelo seco) se hallaron en FQ y T, mientras que en BON el mayor el número llegó hasta 32222 UFC  $g^{-1}$  suelo seco en AV,

descendiendo hasta 28278 y 23624 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco en FQ y T (Figura 25). La población más alta de nitrificantes en conjunto (55236 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco) se halló en AV y la mínima (43864 UFC g<sup>-1</sup> suelo seco) en encontró en T.

**Figura 25.** Poblaciones de bacterias nitrificantes (BOA y BON) halladas en los tratamientos evaluados en maíz.



Aunque hubo mayor crecimiento en los tratamientos con AV, los resultados muestran similitud en las poblaciones, especialmente en C, FQ y T. el comportamiento presentado en estos tratamientos coincide con los registros de Abbott y Murphy (2007) y Gallego (2012), quienes hallaron la mayor población de nitrificantes en suelos bajo fertilización orgánica, seguido de suelos bajo fertilización nitrogenada de síntesis industrial y por último en suelos carentes de fertilización alguna.

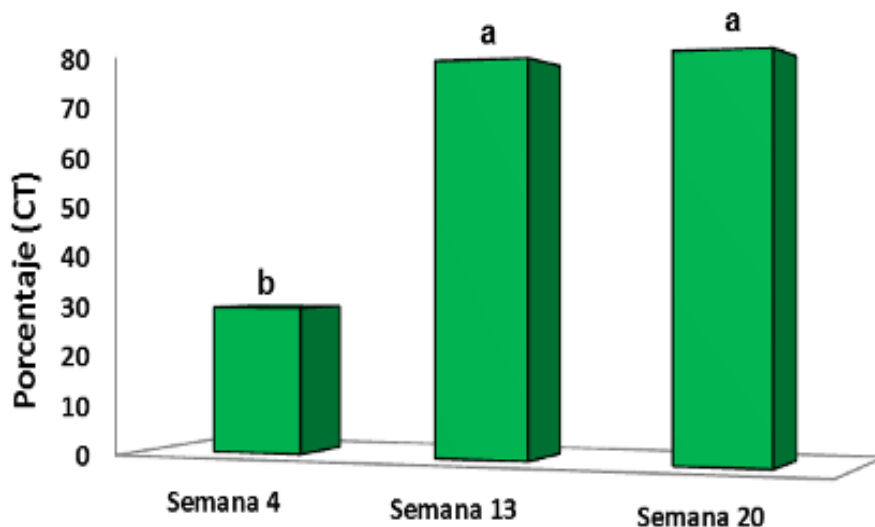
## 1.11 Dinámica de HMA

En el análisis de varianza (Anexo I - L, M, N) se encontró que para los tres componentes de HMA evaluados: colonización total (CT), micelio vivo (MV) y longitud de micelio externo (ME), se hallaron diferencias altamente significativas entre épocas de muestreo, y significativas entre tratamientos únicamente para MV.

### 1.11.1 Colonización Total (CT) de HMA

CT difirió su incremento significativamente a partir de la semana 13 desde la floración del maíz hasta el llenado de granos, a partir de esta época se mantuvo por encima del 70% (Figura 26).

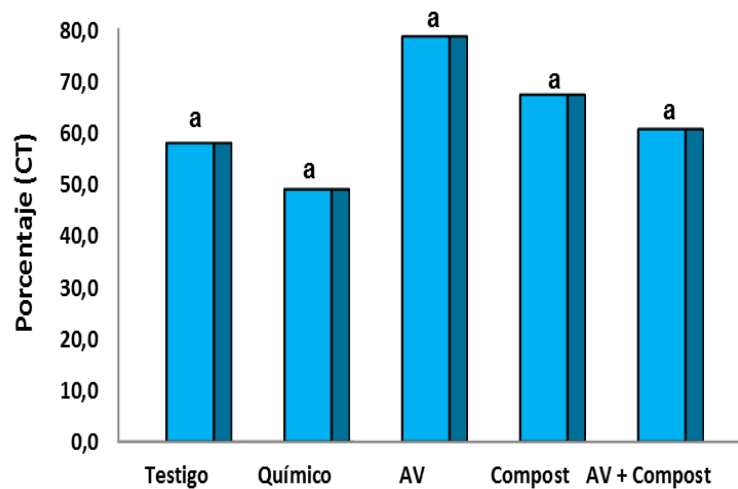
**Figura 26.** Porcentaje de CT por HMA alcanzados en las épocas de evaluación del cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).



La baja CT de HMA (29.7%) en las primeras semanas de la etapa vegetativa del cultivo, pueden estar relacionadas con la edad de la planta y desarrollo del sistema radical, el reciente establecimiento de la simbiosis y la adaptación de la planta a la presencia de HMA, aunque los suelos evaluados son deficientes en fósforo, condición que señalan Torres, (2000), Zárate, (2006), Sánchez de P., *et al.*, (2007) y Sánchez *et al.*, (2007, 2009), como altamente favorecedora para la CT y la contribución efectiva de HMA a la planta.

Sin diferencias significativas a nivel de tratamientos AV, C y AV + C presentaron valores de CT superiores al 70%. Mientras que en T y FQ descendieron (57.9% y 48.9%) como se observa en la figura 27. Rivera *et al.*, (2003), Sánchez de P., *et al.*, (2007, 2009) y Martín *et al.*, (2009) han encontrado que la fertilización de síntesis química industrial inhibe a HMA, y que algunas prácticas como el abonado verde pueden aumentar la alta micorrización del maíz en rotación con *C ensiformis*. Según Martín *et al.*, 2009 *Canavalia spp* es una especie de elevada colonización micorrízica que aporta inóculo al suelo y al siguiente cultivo.

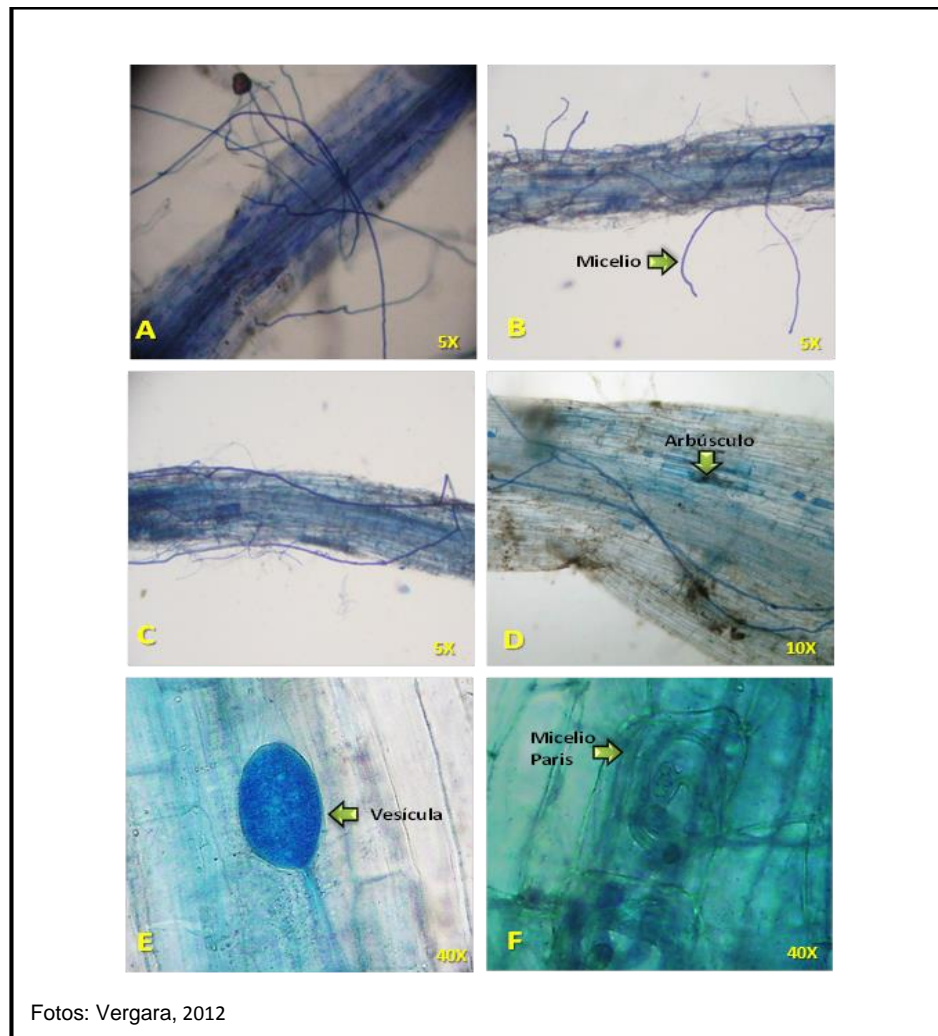
**Figura 27.** Porcentaje de CT por HMA alcanzados en los diferentes tratamientos en el cultivo de maíz.



- **Algunos cambios en la morfología del micelio de HMA**

Al igual que en *C. ensiformis*, en el cultivo de maíz se detectó la presencia de micelio: *Arum* y micelio *Paris* (Figuras 28 B y F), según Smith y Smith (1997) y Brundrett *et al.*, (2008), este comportamiento se debe a diferencias de espacio entre las paredes de las células radicales del hospedero, inducidas por la anatomía de la planta, ya que en zonas intercelulares amplias, el micelio puede desarrollarse profusa y longitudinalmente a través de los canales para el flujo de aire, lo cual es la forma habitual de proliferación en la mayoría de las plantas. Sin embargo, cuando estos espacios son reducidos o modificados por la planta como mecanismo de control del genoma fungoso, éste responde modificando sus estructuras, desarrollándose en los espacios intracelulares del hospedero, en forma de ovillos o bobinas. También la presencia del tipo de micelio está determinada por cada planta y las condiciones internas y externas en las cuales se lleve a cabo la colonización. Sánchez de P., *et al.*, (2007) citan que micelio *Arum* es la forma frecuente de HMA en más taxas.

**Figura 28.** Estructuras de HMA observadas en CT. (A, B, C) micelio tipo *Arum* en raíz de maíz con tinción de Vierheiling *et al.*, (1998); (D) arbúsculo; (E) vesícula; (F) micelio tipo *Paris*.



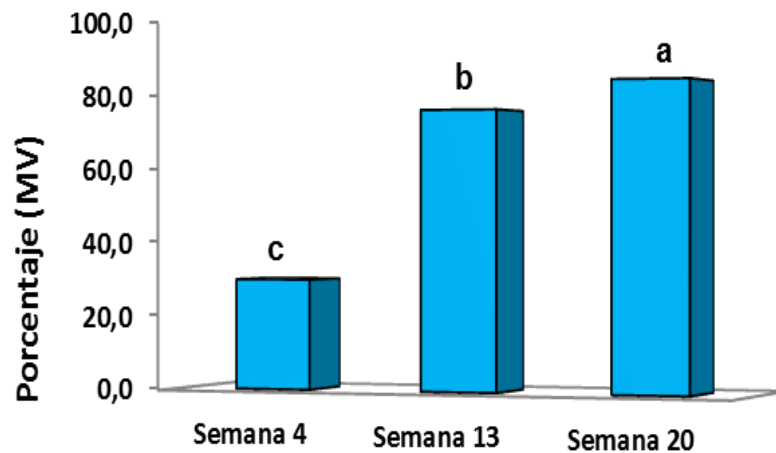
Smith y Smith (1997), registra la presencia de ambos tipos de micelio en plantas de una misma especie en diferentes familias de angiospermas, confirmando la presencia de *Arum* y *Paris* observada en este ensayo. Quedan muchos interrogantes a responder con

relación a las dos formas morfológicas que micelio, por qué se presentan en algunas plantas y en otras no.

### 1.11.2 Colonización por MV de HMA

MV difirió significativamente entre las tres épocas evaluadas y alcanzó los mayores valores en llenado de granos. El 76.1% (floración) y 83.9% (llenado de granos de la CT correspondió a MV (Figura 29), lo cual indica la contribución activa de HMA en la absorción, translocación y transporte de P al hospedero, y su intervención favorable en la nutrición del maíz.

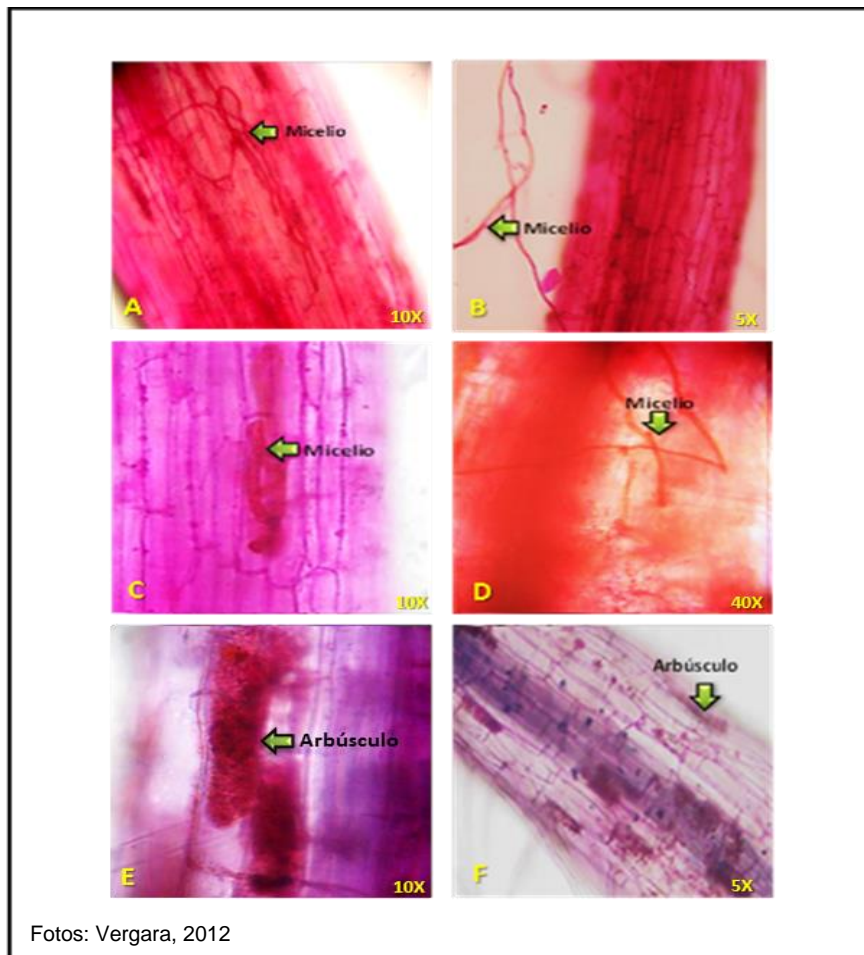
**Figura 29.** Porcentaje de MV de HMA entre épocas de evaluación del cultivo de maíz. Letras diferentes indican diferencia entre épocas de muestreo, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).



Este incremento progresivo coincide con Kabir *et al.*, (1998) y Vélez (2012), quienes hallaron valores de MV comprendidos entre 50% y 85% entre las épocas de floración, llenado de granos y cosecha del maíz.

Algunos detalles observados como las estructuras activas de HMA se presentan en la figura 30.

**Figura 30.** Estructuras de HMA en raíces de maíz participando en la toma activa de fósforo (A, B) micelio externo; (C, D) micelio *Paris* y *Arum*; (E, F) arbusculos.



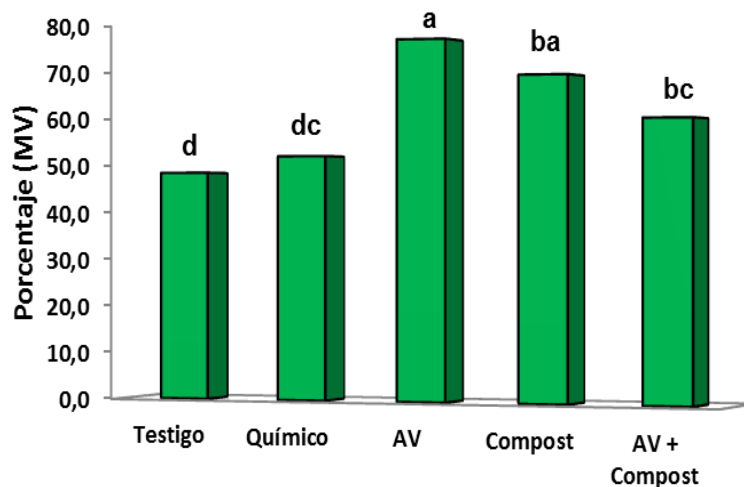
También hubo diferencias altamente significativas para MV entre tratamientos. En AV, C y AV + C alcanzaron 76.7%, 68.9% y 59.7%), respectivamente y en FQ y T: 52.1 % y 48.6 % (Figura 31). Los resultados indican que independiente de que sean condiciones



naturales o inducidas mediante los tratamientos, del 100% de la CT, más de la mitad de las estructuras de los HMA están participando activamente en la absorción de P.

Los resultados derivados de la adición de materiales orgánicos concuerdan con (Rivera *et al.*, 2003; Martín *et al.*, 2009; Vélez, 2012 y Sanclemente, 2013<sup>1</sup>) sobre los beneficios del uso de AV, como fuente nutricional y como vía para potenciar HMA en el suelo.

**Figura 31.** Porcentaje de MV de HMA en los tratamientos durante el ciclo de cultivo de maíz.



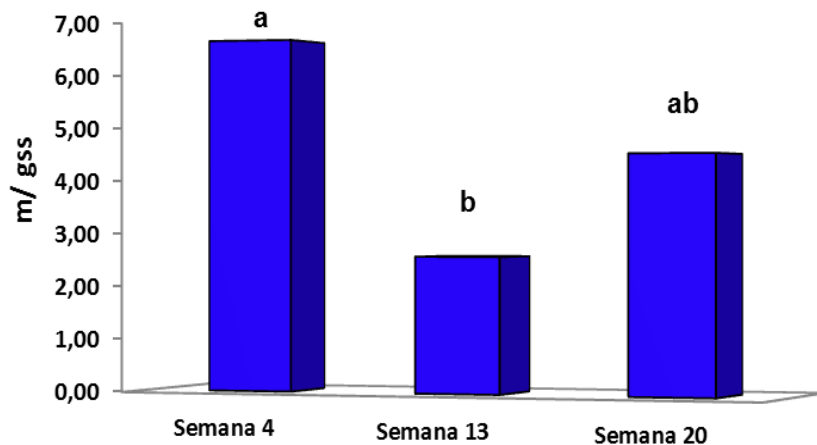
Los valores en FQ reflejan la sensibilidad de MV ante variaciones en el suelo, reprimiendo significativamente su eficiencia para la absorción y suministro de P al hospedero como respuesta al incremento del nutriente vía fertilizantes de síntesis química industrial, coincidiendo con los resultados de Vélez (2012), para la misma zona evaluada, y con Sánchez de P. *et al.*, (2007, 2010), sobre la reducción de la actividad y cantidad del micelio de HMA ante incrementos de P proveniente de agroquímicos.

<sup>1</sup>Sanclemente, O. 2013, comunicación personal

### 1.11.3 Longitud de ME de HMA

Entre épocas de evaluación ME presentó diferencias altamente significativas, alcanzando la mayor longitud (6.7 m/g suelo seco) en la semana 4, decayendo en el período de floración (2.5 m/g suelo seco) y ascendiendo nuevamente (4.5 m/g suelo seco) en llenado de granos (Figura 32).

**Figura 32.** Longitud de ME en tres épocas de evaluación del cultivo de maíz.

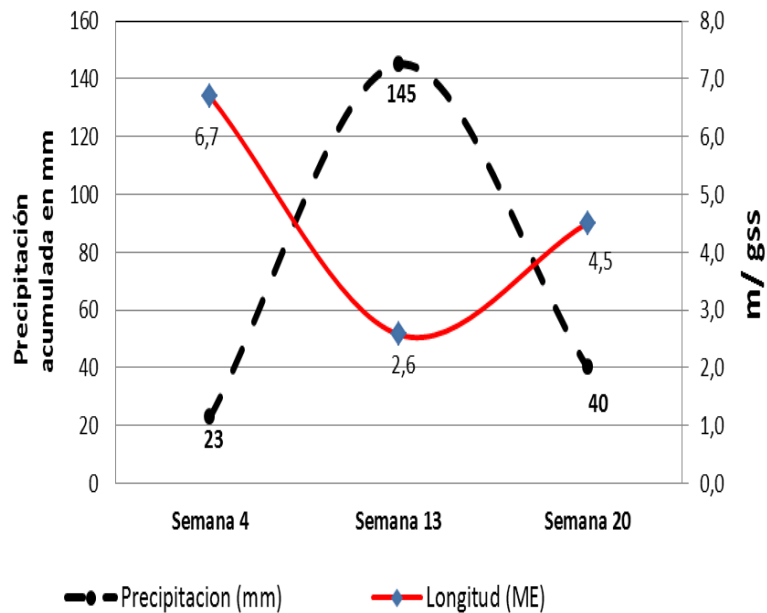


Los valores hallados en las primeras semanas de la etapa vegetativa del cultivo reiteran lo citado por Sánchez de P., *et al.*, (2007), Sánchez de P., y Velásquez (2008), sobre la profusa extensión de ME en el suelo para cumplir funciones complementarias en la búsqueda de nuevas raíces para colonizar y establecer la simbiosis, y explorar amplios volúmenes de suelo para la absorción y aprovechamiento del P disponible.

La reducción del ME en la semana 13 aparentemente está relacionada con el incremento en la precipitación (Figura 33), la cual influyó negativamente sobre este componente, ya que el suelo es muy pesado y tiende a inundarse, condición que desfavorece a los HMA altamente aeróbicos. Reyes (2001); Zárate (2006); Sánchez de P., *et al.*, (2007, 2009);

Sánchez de P., y Velásquez, (2008), han encontrado resultados similares sobre la inhibición de HMA y su actividad ante algunos factores ambientales y edáficos, especialmente la alta precipitación y la humedad del suelo: estas condiciones también afectaron negativamente  $N_i$ , BOA y BON.

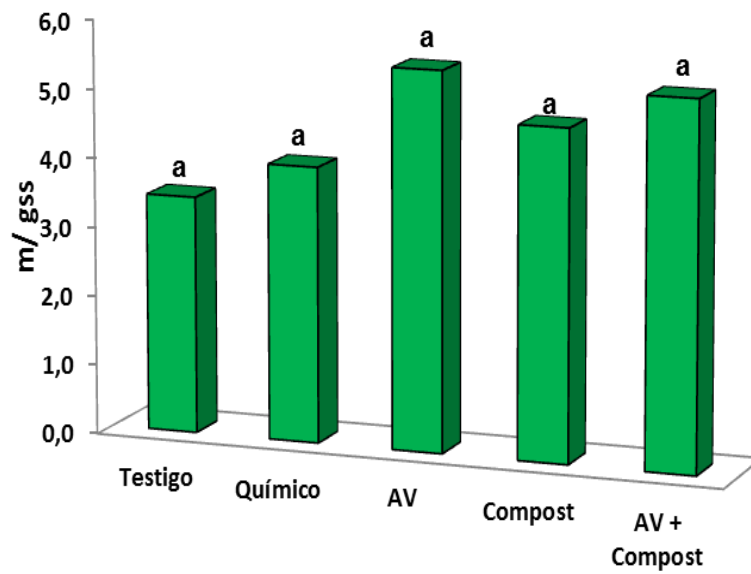
**Figura 33.** Relación longitud de ME y precipitación acumulada en tres épocas de evaluación del cultivo de maíz.



Aunque hay registros sobre amplios rangos de longitud de ME en suelos tropicales, los valores obtenidos en este ensayo coinciden con los hallados por Vélez (2012) para la zona de estudio y con Sánchez de P., *et al.*, (2009), quienes indican que dependiendo de propiedades de los suelos, ME puede variar de 3.1 hasta 40 m/gss

Pese a no detectarse diferencias significativas entre tratamientos (Figura 34) la mayor longitud (5.5 m/gss) se halló en AV, seguido de AV+ C (5.3 m/gss) y C (4.8 m/gss), contrastando con FQ (4.0 m/gss) y T (3.4 m/gss).

**Figura 34.** Longitud de ME de HMA en los tratamientos evaluados durante el ciclo de cultivo de maíz.



Al igual que en los resultados hallados para las bacterias nitrificantes los mayores valores correspondieron a los tratamientos con adición de materia orgánica, principalmente como AV, manifestando sus beneficios implícitos como fuente gradual de nutrientes. De acuerdo con Torres (2000); Reyes (2001); Sánchez de P., *et al.*, (2009) y Vélez (2012), estos abonos estimulan la actividad biológica de HMA y propician la reducción en las pérdidas de P por fijación en suelos ácidos, lo cual se traduce en el incremento, disponibilidad y captación del nutriente por el sistema radical y por la vía ME.

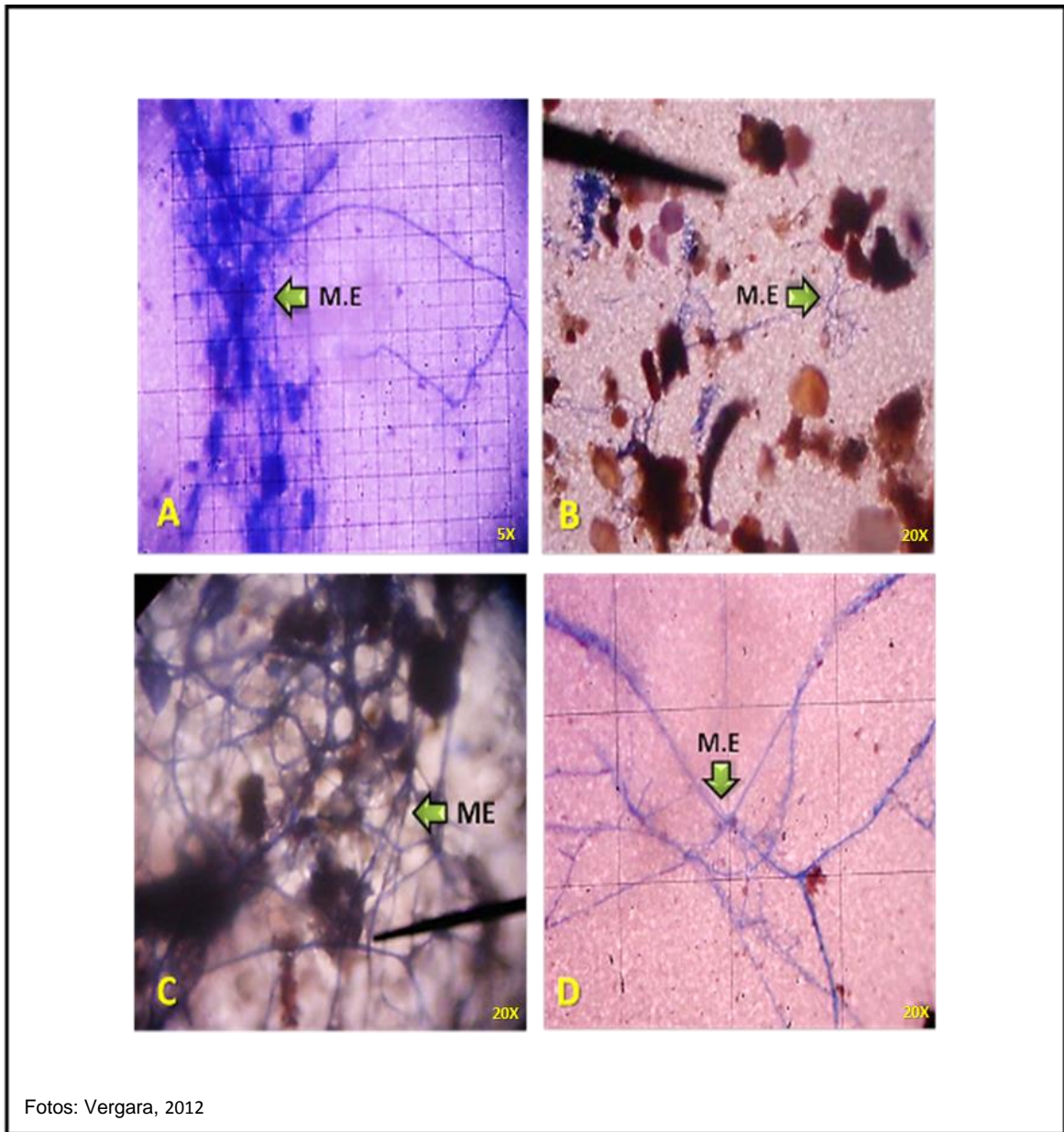
Adiferencia de los anteriores resultados en FQ disminuye la extensión de ME en el suelo, inducida por el incremento en el P disponible. El comportamiento de ME manifestado en este ensayo concuerda con los resultados hallados por Vélez (2012) y con Torres (2000); Reyes (2001) y Sánchez de P., *et al.*, (2007), quienes han registrado efectos inhibitorios ocasionados por incrementos en los contenidos de P disponible sobre ME y sus beneficios concomitantes. También coinciden con Sánchez de P., *et al.*, (2009), cuando

citan que “ME de HMA es influenciado e influencia condiciones físico-químicas y biológicas de los suelos. Se afecta negativamente por el alto uso de fertilizantes de síntesis y biocidas y positivamente por prácticas agroecológicas como uso de materia orgánica”.

### **1.11.3.1 Visibilización de ME en el Suelo**

Además de la extensión profusa para el ciclaje de agua y nutrientes, la figura 35 muestra algunas habilidades características e importantes de ME en el suelo, tales como la formación de redes o marañas que envuelven finas partículas de arcillas, arenas, limos y fracciones del suelo como la materia orgánica para juntarlas primeramente en forma de microagregados y posteriormente como macro agregados estables, que definirán en gran parte la bioestructura del suelo, con su importante contribución en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Zárate, 2006; Sánchez de P., y Velásquez, 2008 y Sánchez de P., *et al.*, 2009).

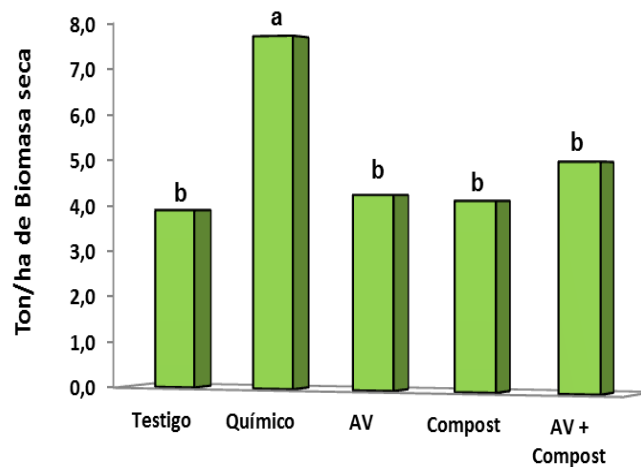
**Figura 35.** (A y D) cuantificación de longitud de ME según técnica de Miller y Jastrow (1992); (B y C) ME participando en la formación de microagregados del suelo.



### 1.12 Biomasa seca del cultivo

La biomasa seca varió significativamente entre FQ (7.70 Ton/ha), y el resto de los tratamientos evaluados, los cuales no difirieron entre sí (Figura 36).

**Figura 36.** Biomasa seca (ton/ha) producida en los tratamientos evaluados durante el ciclo de cultivo del maíz.



Todos los valores están en el rango promedio registrado para la variedad de maíz sembrada (Granada *et al.*, 2008) y en la misma zona de estudio (Gallego, 2012 y Vélez, 2012). De acuerdo con Gallego (2012) y Sanclemente (2009), la pronta oferta nutricional en FQ, tras su aplicación es la principal cualidad de estas fuentes de síntesis química industrial, especialmente en los periodos fenológicos críticos del cultivo, lo cual se reflejó en el crecimiento y biomasa acumulada del maíz.

Los tratamientos contrastantes muestran menor acumulación de biomasa seca, posiblemente por efectos de la forma de aplicación, la cual fue solo una vez, proporcionando altas cantidades iniciales al suelo y al cultivo, que no se repiten, cosa que sí sucede en FQ tratamiento en el cual, los nutrientes se aplican en forma fraccionada. Quedan interrogantes en este ensayo con respecto a qué pasaría si la

fertilización orgánica se repitiera, en términos de variables biológicas, físico-químicas y económicas coincidiendo con Vélez (2012) sobre la posibilidad de equilibrar o reducir las diferencias productivas entre los dos tipos de fertilización mediante el incremento y frecuencia de aplicación de las fuentes orgánicas.

### 1.13 Análisis de correlaciones.

En el análisis de correlaciones de Pearson (Anexo J), como era de esperarse se encontró una relación altamente significativa entre las concentraciones de  $N_t$ ,  $N_{org}$ , y  $N_i$  en el proceso de mineralización del N. El  $N_i$  ( $NH_4^+ + NO_3^-$ ) gastado en el agroecosistema en todos los tratamientos y épocas evaluados, superó al producido, según lo señalaron las tasas de mineralización neta negativas, circunstancia explicada en términos de sumatoria de necesidades del cultivo, inmovilización y pérdidas mediante lixiviación y volatilización.

También como era de esperarse, las poblaciones de BOA y BON estuvieron asociadas de forma significativa entre sí, y significativamente con  $N_t$ . Adicionalmente, el crecimiento de estas poblaciones nitrificantes se correlacionó altamente con MV y ME.

Cuando se incrementó la concentración de  $NH_4^+$  ME alcanzó mayor longitud (m/gss), coincidiendo su mayor valor en el tratamiento AV y en la etapa vegetativa (semana 4 después de siembra). Hay registros de transporte de  $NH_4^+$  vía micelio de HMA, pues se ha comprobado que estos hongos no sólo transportan P si no otros nutrientes, entre ellos, el N en forma amoniacal (Sánchez de P., *et al.*, (2007; Sánchez de P y Velásquez, 2008). La disminución de  $N_i$  correlacionó con mayor expresión de CT y MV.



## Capítulo 5: Consideraciones finales

El tipo de suelo en la zona de estudio y sus características definió gran parte de los resultados obtenidos en el ensayo. Este Inceptisol, considerado relativamente joven y de textura franco-arcillosa (Rubiano, 2010), muestra la influencia de un prolongado manejo agroecológico a través de altas concentraciones de materia orgánica previas al establecimiento de los tratamientos.

A pesar de la abundante materia orgánica estos suelos mostraron deficiencias en K, P y Fe, los cuales según criterios de expertos no llegaron a ser limitantes para el cultivo de maíz (Ortega y Corvalán (s.f.) y Semicol, 2012). Sin embargo, los resultados señalan debilidades ligadas al origen de este suelo y a condiciones ambientales propias del lugar CVC y UNAL (2001). Los bajos niveles de P encontrados favorecieron la expresión de HMA.

Las cualidades de la composición nutricional de *A. scoparius* y *C. ensiformis* se expresaron posteriormente sobre las variables evaluadas en términos de la dinámica del N, bacterias nitrificantes, colonización por HMA en el suelo y biomasa seca del cultivo de maíz.

En cuanto al N los resultados corroboraron que la mayor fuente en el suelo está almacenada como  $N_{org}$  y la fracción disponible de  $N_i$  ( $NH_4^+ + NO_3^-$ ) es muy dinámica, pero al mismo tiempo se mueve en un rango muy estrecho. Como es de esperarse, entre  $NH_4^+$  y  $NO_3^-$  la relación es íntima al ser uno sustrato y el otro producto de la actividad de las bacterias nitrificantes. Estas variables están ligadas a las condiciones de suelo, precipitación y temperatura.

Cabe destacar que durante el ciclo de cultivo del maíz la fracción de  $N_i$  y la tasa de mineralización puntual de  $N_{org}$  fueron favorecidas por los abonos orgánicos, especialmente en las primeras semanas de la etapa vegetativa del cultivo, época de mayor acción degradativa de la materia orgánica activa adicionada y sus consecuencias sobre las bacterias nitrificantes y los HMA como resultado del efecto “priming”, que se manifiesta abajo y arriba del suelo (Coyne, 2000; Sullivan, 2003; Brady y Weil 2004; Sylvia, *et al.*, 2005; Clark, 2007 y Gallego, 2012).

La expresión de las variables evaluadas fue diferente en función de las edades del cultivo. En la etapa vegetativa ante la mayor ganancia de  $NH_4^+$  hubo mayor expresión de BOA y ME. Stavros, (2012) señala que además de la absorción de P, los HMA participan en la translocación de  $NH_4^+$  vía hifas externas y enfatiza sobre el sinergismo entre HMA y microorganismos fijadores de  $N_2$  de vida libre.

Tal como lo señaló el análisis de correlaciones CT y MV, se incrementaron significativamente cuando el gasto en la concentración de las moléculas de N mineralizadas superó al almacenamiento, y muy significativamente con la reserva progresiva de  $N_{org}$  derivado de la materia orgánica adicionada y la nativa. Adicionalmente, el comportamiento inverso de CT y MV con respecto a ME en el tiempo permite inferir sobre la habilidad de HMA para modificar la longitud del micelio dentro y fuera de la raíz, según las condiciones del entorno, el tipo y concentración del nutriente y los requerimientos de la simbiosis. Estos resultados permiten entrever los diferentes grados de respuesta de los componentes de HMA al estímulo del N y otros nutrientes como el P en su forma mineral y como materia orgánica.

En la floración del cultivo la expresión de las variables estuvo marcada por la influencia de la precipitación. De acuerdo a los resultados hallados y al análisis de correlaciones la excesiva lámina de agua y sus consecuencias sobre la retención de humedad y la difusión del oxígeno en el suelo impactaron negativamente sobre las concentraciones de  $N_{org}$ , N mineralizado y la actividad microbiana en el suelo, desmejorando las condiciones de mineralización aun cuando los sustratos estaban presentes. La sensibilidad de BOA, BON y ME, aerobios estrictos se expresó de forma muy significativa al presentar los menores valores, reiterando afirmaciones acerca del efecto negativo de la excesiva humedad sobre N y sobre algunos indicadores biológicos del suelo (Acero, 2007; Sánchez de P., *et al.*, 2007 y 2009; Gallego, 2012 y Marín, 2013).

El MV de HMA, indicador activo y sensible durante la absorción de P y otros nutrientes como N (Sánchez de P., *et al.*, 2007 y 2009; Hodge *et al.*, 2010), expresó de forma altamente significativa el efecto de los AV, seguido de los demás materiales orgánicos, pero también inhibió su expresión por el incremento de  $NH_4^+$  molécula predominante en los fertilizantes de síntesis nitrogenados adicionados en FQ.

La acumulación de biomasa seca del maíz reflejó el manejo agronómico en los tratamientos durante el ensayo. FQ predominó sobre los demás tratamientos, resultados posiblemente ligados a la naturaleza, liberación de nutrientes y forma de aplicación de estas fuentes industriales. En contraste, las fuentes orgánicas se aplicaron una vez, la liberación de nutrientes fue determinada por la constitución de los AV y el compost, unido a las condiciones de mineralización mencionadas. Contexto que permite inferir que probablemente la temprana oferta de nutrientes de los abonos orgánicos no coincidió del todo con los periodos críticos del cultivo a diferencia de FQ que comprendió tres aplicaciones, precisamente en dichas etapas críticas. De acuerdo con otras investigaciones, una posibilidad de dar respuesta a estos interrogantes productivos sería, en próximos experimentos, distribuir la forma de aplicación de los abonos con el fin de mejorar la producción y optimizar el efecto favorable de estas fuentes sobre propiedades físicas químicas, biológicas y demás propiedades emergentes del suelo como sanidad, calidad, sostenibilidad y resiliencia de este, cualidades que tienen su máxima expresión a

mediano y largo plazo. (Torres, 2000; Reyes, 2001; Cobo *et al.*, 2002; Salamanca, 2003; Martín y Rivera, 2004; Clark, 2007; Sánchez de P., *et al.*, 2007; Sanclemente, 2009; Gallego, 2012; Vélez, 2012 y Marín, 2013).

Otra posibilidad la constituye el complementar el AV con algunas aplicaciones de materia orgánica más sencillas por ejemplo, los lixiviados a partir de AV, haciendo coincidir las aplicaciones con las épocas de máxima demanda del cultivo. Adicional a lo anterior se podría acudir a aplicaciones órgano-minerales, dada las características de este suelo, por ejemplo, fuentes de materia orgánica de fácil manejo y roca fosfórica.

El análisis en conjunto permitió demostrar la influencia de la materia orgánica adicionada al suelo, evaluada mediante las variables ligadas a la dinámica del N y los componentes de HMA. Además de las relaciones entre los componentes internos ligados al ciclo del N ( $N_t$ ,  $N_{org}$ ,  $N_i$ ,  $NH_4^+$  y  $NO_3^-$ ) y al P a través de los HMA (CT, MV y ME), se pudo comprobar la significativa relación entre la dinámica del Ni ( $NH_4^+$  y  $NO_3^-$  BOA y BON) fracción disponible para las plantas y la dinámica del P que circula vía HMA (ME y MV). Estas relaciones evolutivamente están destinadas a traducirse en beneficios para el sistema suelo – planta, para el agroecosistema en particular y, en la economía de la naturaleza.

## Conclusiones

- En el suelo *Humic dystropept* de zona de ladera de la finca “Las Flores” (municipio de Palmira) el uso materia orgánica, principalmente AV influyó en la dinámica del N en maíz, en las poblaciones de bacterias nitrificantes y en los componentes de HMA, con sus implicaciones sobre la nutrición del cultivo.
- La adición al suelo de *Canavalia ensiformis* y *Axonopus scoparius* como AV en el cultivo del maíz constituyó una fuente activa de materia orgánica que estimuló la mineralización del N, la dinámica y el crecimiento de bacterias nitrificantes BOA y BON, las cuales difirieron significativamente en función de los estadíos del cultivo, tratamientos y la precipitación.
- Los componentes de HMA Colonización total, micelio vivo y micelio externo respondieron significativamente al estímulo de la materia orgánica como AV, validando el conocimiento existente en torno a la importancia de la simbiosis para los cultivos y en particular para el maíz.
- Además de las relaciones entre los componentes internos ligados al ciclo del N ( $N_t$ ,  $N_{org}$ ,  $N_i$ ,  $NH_4^+$  y  $NO_3^-$ ) y al P a través de los HMA (CT, MV y ME), se pudo comprobar la significativa relación entre la dinámica del Ni ( $NH_4^+$  y  $NO_3^-$  BOA y BON) fracción disponible para las plantas y la dinámica del P que circula vía HMA (ME y MV). Estas relaciones evolutivamente están destinadas a traducirse en beneficios para el sistema suelo – planta, para el agroecosistema en particular y, en la economía de la naturaleza.

## **A. Anexo: Descripción del perfil de suelos finca “Las Flores” (Rubiano, 2010)**

- Unidad cartográfica: Consociación Villa Colombia.
- Describió: Yolanda Rubiano.
- Fecha: Mayo 16 de 2010.
- Localización: Departamento del Valle del Cauca, Municipio de
- Palmira, Corregimiento Ayacucho – La Buitrera.
- Coordenada X: (W 76° 11´0.2´´)
- Coordenada Y: (N: 03° 30´1.4´´)
- Altitud: 1713 msnm.
- Topografía: Fuertemente inclinada con pendientes del 12%.
- Material parental: Arcillolitas.
- Régimen de humedad del suelo: Údico.
- Régimen de temperatura del suelo: Isotérmico.
- Profundidad efectiva: 250 cm.
- Drenaje natural: Moderadamente bien drenado.
- Evidencias de erosión: No hay.
- Epipedón: Úmbrico.
- Horizontes subsuperficiales: Cambico.

**Descripción del perfil:**

- **Ap** 0 - 30 cm; color en húmedo 7.5YR 3/2 (marrón oscuro ); color en seco 7.5 YR 3/2 (marrón oscuro) arcillo limosa; con estructura en bloques subangulares, grandes y medios, fuertemente desarrollados; consistencia en seco: muy dura; consistencia en húmedo: firme, plástica y muy pegajosa; poros abundantes muy finos y finos; abundantes raíces gruesas, medias y finas, vivas; regular actividad biológica (lombrices); pH 6.5; superficies de deslizamiento, débiles; límite claro y ondulado.
- **Bw<sub>1</sub>** 30 - 53 cm; color en húmedo 95% de 5 YR 4/6 (rojo amarillento) con 5% de 10 R 3/6 (rojo oscuro); arcillosa; con estructura en bloques subangulares, grandes y medios, fuertemente desarrollados; Consistencia en húmedo: friable; muy plástica y muy pegajosa; poros abundantes muy finos y finos; regulares raíces medias y finas; vivas; regular actividad biológica; pH 5.5; límite difuso y ondulado.
- **Bw<sub>2</sub>** 53 - 80 cm; color en húmedo 90% de 5 YR 4/6 (rojo amarillento) con 10% de 10 YR 4/4 (pardo amarillento oscuro); arcillosa; con estructura en bloques subangulares, grandes y medios, moderadamente desarrollados; consistencia en húmedo: friable; muy plástica y muy pegajosa; poros regulares muy finos; regulares raíces finas; vivas; poca actividad biológica; pH 4.5; límite difuso y ondulado.
- **Bw<sub>3</sub>** 80 - 200 cm; color en húmedo 80% de 5 YR 5/8 (rojo amarillento) con 20% de 10 YR 5/8 (marrón amarillento); arcillosa; con estructura en bloques subangulares, grandes y medios, moderadamente desarrollados; consistencia en húmedo: friable; plástica y muy pegajosa; pocos poros muy finos; pocas raíces finas, vivas; poca actividad biológica; pH 4.5; límite difuso y ondulado.

## B.Anexo: Análisis químico del compost empleado en el ensayo.

**Proveedor: Elizabeth Martínez.**

Elementos	Unidades	Concentración	Métodos*	Fuente
C-Total	g/kg	185,57	Colorimetría espectrofotómetro. (Walkley and Black, 1934)	CIAT, 2006.
N-Total	g/kg	7,44	Colorimetría espectrofotómetro Digestado de ácido sulfúrico.	CIAT, 2006.
P-Total	g/kg	8,74	Colorimetría espectrofotómetro. Digestado de ácido sulfúrico.	CIAT, 2006.
K	g/kg	10,92	Espectrometría de absorción atómica. Digestado mezcla Nítrico-Perclórica.	CIAT, 2006.
Ca	g/kg	83,49	Espectrometría de absorción atómica. Digestado mezcla Nítrico-Perclórica.	CIAT, 2006.
Mg	g/kg	9,91	Espectrometría de absorción atómica. Digestado mezcla Nítrico-Perclórica.	CIAT, 2006.
S-Total	g/kg	3,50	Turbidimetría. Digestado mezcla Nítrico-Perclórica.	CIAT, 2006.
B	mg/kg	37,87	Espectrometría molecular Manual. Azometina. En agua caliente (Mahler et al., 1984)	CIAT, 2006.
Fe	mg/kg	91,58	Espectrometría de absorción atómica. Digestado mezcla Nítrico-Perclórica.	CIAT, 2006.
Mn	mg/kg	519,18	Espectrometría de absorción atómica. Digestado mezcla Nítrico-Perclórica.	CIAT, 2006.
Cu	mg/kg	52,16	Espectrometría de absorción atómica. Digestado mezcla Nítrico-Perclórica.	CIAT, 2006.
Zn	mg/kg	142,79	Espectrometría de absorción atómica. Digestado mezcla Nítrico-Perclórica.	CIAT, 2006.

Fuente: Gallego, (2012).



## C.Anexo: Métodos empleados para evaluar algunas características químicas del suelo.

VARIABLE	METODOLOGÍA	FUENTE
pH	Potenciometría. En Agua 1:1	CIAT, 2006.
Carbón orgánico % (materia orgánica)	Volumetría Espectrometría molecular Autoanalizador. (Walkley and Black, 1934)	CIAT, 2006.
Fósforo (P)	Espectrometría molecular, Autoanalizador Murphy-Riley. (Bray II).	CIAT, 2006.
Cationes Cambiables (pH<5.5) K, Ca, Mg, Na intercambiable	Espectrometría de emisión atómica.	CIAT, 2006.
Al intercambiable	Volumetría En KCl 1M.	CIAT, 2006.
Micronutrientes (Cu, Zn, Mn, Fe)	Espectrometría de absorción atómica. En doble acido. (Martens y Lindsay, 1990).	CIAT, 2006.
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	Volumetría (NaOH 0.1N). En acetato de amonio 1N.	CIAT, 2006.
Azufre (S)	Turbidimetría. En Fosfato de calcio. (Wall et al, 1980).	CIAT, 2006.
Boro (B)	Espectrometría molecular Manual. Azometina. En agua caliente. (Mahler <i>et al</i> , 1984)	CIAT, 2006.
Molibdeno (Mo)	Espectrometría de horno de grafito. En oxalato acido de amonio. (Kubota and Cary, 1982).	CIAT, 2006.

Fuente: Gallego, (2012).

## **D. Anexo: Preparación de medios de cultivo y aislamiento de bacterias nitrificantes del suelo.**

Una vez obtenidas las muestras de suelo para aislar bacterias nitrificantes, se emplea el método de las diluciones sucesivas e inoculación en el medio líquido, sintético o definido, diferencial de (Schmidt E. y Belser L. 1994, modificado por Rodríguez y Moreno *et al.* 2007), cambiando el cloruro de calcio di hidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) por 0.5 gramos de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) para incrementar el pH (Gallego, 2012) tal como lo muestra la tabla de componentes del medio.

Para la preparación del caldo nitrito se unen el carbonato de calcio y el sulfato de magnesio, los cuales se autoclavan e incorporan al resto de la preparación de la solución al justo al momento de servir en los tubos.

Los caldos o medios diferenciales deben presentar una tonalidad característica según el indicador de pH; el color azul corresponde al caldo  $\text{NH}_4^+$  y el color blanco lechoso corresponde al caldo  $\text{NO}_2^-$ . El pH adecuado para estos caldos oscila entre 7.2 y 7.4. Una vez preparados los caldos y con el pH óptimo se adicionan de forma separada 4 ml por tubo de ensayo y se procede a esterilizar los medios.

Debido a la condición aeróbica de las bacterias nitrificantes los tubos de ensayo se tapan con un tapón de algodón o espuma durante la incubación con el objetivo de evitar condiciones de anoxia que inhiban el crecimiento de las bacterias.

Después de aplicar el inóculo procedente de las diluciones seriales por el método del número más probable (NMP) las bacterias se incuban por 15 días, de acuerdo con Rodríguez y Moreno *et al.*, (2007), quienes trabajando con estas bacterias determinaron que el periodo en el cual se presenta un mayor crecimiento correspondió a dos semanas después de la incubación. Para la identificación de BOA y BON se emplean pruebas bioquímicas, utilizando el reactivo de Griess – Llosvay modificado.

Materiales para solución stock a emplear en la preparación de medios de cultivo de bacterias amonificantes y nitrificantes

Constituyente Químico	Concentración de solución stock g/ 100 ml	Caldo NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ml	Caldo NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ml
(NH <sub>4</sub> )SO <sub>4</sub>	5.0	10.0	.....
KNO <sub>2</sub>	0.85	.....	1.0
CaCO <sub>3</sub>	0.5	1.0	1.0
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	4.0	1.0	5.0
Azul de bromotimol	0.04	5.0	.....
FeSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	0.246	1.0	1.0
EDTA disódico	0.331	1.0	1.0
Elementos traza	.....	1.0	1.0
NaMoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0.01	1.0	1.0
MnCl <sub>2</sub>	0.02	1.0	1.0
COCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.0002	1.0	1.0
ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.01	1.0	1.0
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.002	1.0	1.0

Fuente: Schmitt y Belser, (1994)

## E. Anexo: Tabla guía para cuantificar poblaciones de bacterias nitrificantes mediante software MPNes®.

Tubos positivos						Población total de nitrificantes BOA y BON UFC
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	
4	0	0	0	0	0	87,5
4	1	0	0	0	0	136,6
4	1	1	0	0	0	206,9
4	2	0	0	0	0	233,5
4	2	1	0	0	0	352,3
4	3	0	0	0	0	427,5
4	3	1	0	0	0	605,6
4	3	2	0	0	0	810,7
4	3	2	1	0	0	1021,8
4	3	3	1	0	0	1293,0
4	4	0	0	0	0	875,1
4	4	1	0	0	0	1365,8
4	4	1	1	0	0	2068,8
4	4	2	0	0	0	2333,3
4	4	2	1	0	0	3521,3
4	4	2	2	1	0	6166,0
4	4	3	0	0	0	4273,1
4	4	3	1	0	0	6055,0
4	4	3	1	1	0	7911,0
4	4	3	2	0	0	8096,9
4	4	3	2	2	0	12552,0
4	4	4	0	0	0	8765,1
4	4	4	1	0	0	13665,5
4	4	4	1	1	0	20793,3
4	4	4	2	0	0	23169,3
4	4	4	3	1	0	61781,5
4	4	4	3	2	0	80791,1
4	4	4	3	3	0	95047,8
4	4	4	4	0	0	104553,3
4	4	4	4	1	0	133033,9
4	4	4	4	2	0	228113,0
4	4	4	4	3	0	456200,0

Fuente: Neuzha Asakawa, CIAT, (2013)

## **F. Anexo: Cuantificación de porcentaje de colonización total (CT) de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA).**

### **Procedimiento**

Esta metodología propuesta por Sierverding (1983) y recopilada por Sánchez de P., *et al.*, (2010), consiste en los siguientes pasos: las raíces recortadas se lavan con agua del grifo, para eliminar impurezas de forma delicada para evitar daños en la estructura radical. Si se desea se deja la muestra en remojo por un lapso de tiempo, en el cual el suelo adquiere humedad y el lavado es menos agresivo para la raíz.

Se toman raíces finas menores de 1 mm de diámetro, para facilitar la penetración de los reactivos, estas deben extenderse de manera que no queden apretadas dentro del tubo; en trabajos detallados, se pesa la muestra a utilizar, con el fin de unificar el tamaño de muestra.

### **Tinción con tinta en vinagre (Vierheilig *et al.*, 1998)**

La solución colorante que se utiliza en esta metodología es la tinta negra y/o azul (Sheaffer) al 5% en vinagre de uso doméstico (vinagre blanco natural al 4%), si no se dispone de esta marca de tinta, se puede optar por hacer un pre-ensayo con las tintas que se encuentran a disposición en el mercado.

La limpieza de las raíces varía según el tipo de planta, una vez limpias se cortan y se depositan en un Beaker previamente rotulado para decolorarse con KOH al 10% en baño maría o plancha de calentamiento calibrada a 90°C de 1 a 3 minutos según el tipo de raíz, en algunos casos cuando la raíz es muy pigmentada se requiere de un tiempo extra en la decoloración. Según Lara, (2003) se puede reemplazar la plancha de calentamiento por horno microondas por cerca de 30 segundos.

Una vez decoloradas las raíces se trasladan a tubos de ensayo y se cubren con solución de tinta al 5% en vinagre y se calientan en baño María a 90° C por 3 minutos. Posteriormente se retira el sobrenadante de tinta y pasados 20 minutos las raíces se lavan con agua de la llave. Las muestras teñidas se depositan en cajas de Petri para cortar fragmentos de raíz cercanos a 1 cm, los cuales se montan en portaobjetos, con una gota de agua destilada o PLVVG, cubriendo la placa con cubre objetos para realizar las observaciones en el microscopio.

### **Intervención de campo en la placa**

Dependiendo del tamaño del portaobjetos, se puede montar entre 5 y 10 cm de raíces, con unas gotas de lactoglicerol, las placas se sellan con esmalte o se mantienen por un tiempo en lactoglicerol, dependiendo de la magnitud del ensayo las observaciones pueden variar entre 30 - 100 cm de raíz/tratamiento (Sánchez de P., *et al.*, 2007).

Para realizar la evaluación se acude al objetivo 40X del microscopio. González, (1993) sugiere tres puntos equidistantes por cada portaobjeto que se recorren en sentido horizontal y perpendicular. Para la evaluación en el microscopio se comienza por el extremo de la primera raíz, en este campo visual se indica si existe o no colonización, y si se requiere una evaluación más detallada se especifica si se trata de micelio, arbuscular, vesicular y/o combinaciones. Se pasa al siguiente campo de forma horizontal y nuevamente se indica si hay o no colonización. Se continúa hasta recorrer toda la placa. Cada que se tiene un campo óptimo, éste se suma como un campo total, independiente de que haya o no colonización.

### **Porcentaje de colonización total por HMA = (C/T) x 100**

Para el cálculo del porcentaje de CT por HMA se emplean las siguientes formulas:

**C:** número de campos colonización por cualquier estructura de HMA.

**T:** número total de campo observados.

### **Porcentaje de colonización por vesículas: (V/T) x100**

**V:** número de campo por presencia de vesículas.

### **Porcentaje de colonización por Arbúsculos: (A/T) x100**

**A:** número de campo con presencia de Arbúsculos.

## **G. Anexo: Protocolo para tinción y cuantificación de micelio vivo y activo (MV) de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA).**

### **Procedimiento general para tinción:**

Raíces de aproximadamente 1 mm de diámetro se lavan y se cortan en fragmentos de 0.5 cm, se depositan en Beakers y se cubren con solución incubadora, cuya composición y detalles se amplían en Sánchez de P., *et al.*, (2010). Una vez adicionada la solución se cubre el recipiente con papel aluminio para proteger de la luz, debido a la fotosensibilidad y deterioro de la solución. Las raíces en solución se incuban a 28° C durante 12 a 16 horas con agitación suave y en completa oscuridad.

Pasado ese tiempo lavar las raíces, para eliminar restos de la solución incubadora que no se fijó en las raíces. Luego se lavan con hipoclorito de sodio al 3% (hasta cubrir las raíces), mantener por cerca de 5 minutos a temperatura ambiente según el tipo de raíz. Pasado este tiempo lavar con abundante agua destilada.

Para dar contraste se utiliza fucsina ácida al 0,1% diluida en proporción 1:5 fucsina: agua desionizada. Para esto, se transfieren las raíces a un tubo de ensayo, con fucsina y se llevan a baño María previamente calibrado a 90°C, por 1 minuto. Una vez culminado este tiempo lavar las raíces con agua destilada.

Para cuantificar micelio activo se procede de forma similar a la estimación del porcentaje de colonización radical por HMA, teniendo en cuenta que solo se verán teñidas las estructuras vivas del simbiote.

## **H.Anexo: Protocolo para extraer y cuantificar micelio externo (ME) de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA).**

### **Extracción de ME:**

Toma una muestra compuesta de suelo cercano a la planta (15 a 20 g de suelo por muestra, en los primeros 5-10 cm de profundidad), se pasa por tamiz de (No. 10), pesar por triplicado 5 g de suelo previamente tamizado, adicionarlos a un Beaker de 600 ml, añadir 250 ml de agua desionizada y 31 ml de hexametáfosfato de sodio al 5% para dispersar el suelo. Cubrir el Beaker con papel aluminio para prevenir evaporación y dejar así durante 12 horas.

Pasado este tiempo cada muestra se mezcla con agitador de vidrio, el cual debe ser lavado con agua destilada, para remover posibles hifas que hayan quedado adheridas. En caso de tener ultrasonido, la muestra se somete a intensidad de 10% durante 30 segundos y se realiza el mismo proceso de lavado, en caso de no contar con el equipo, el suelo puede dispersarse por 5 minutos en plancha con agitador magnético.

En pleno movimiento cerca al vórtice, se toman 6 alícuotas en forma fraccionada, de 1 ml cada una, que se disponen en un Beaker de 600 ml. La velocidad del agitador debe de ser igual para cada muestra.

A estos 6 ml de alícuota, se les adiciona 250 ml de agua destilada y 31 ml de hexametáfosfato de sodio al 5%, para resuspender las hifas de HMA, de esta nueva dilución se toma 4 alícuotas de 5 ml cada una, para un volumen total de 20 ml que se transfiere a un tamiz de 20  $\mu\text{m}$ . al igual que el paso anterior, la alícuotas se toman en plena agitación, cerca del vórtice. El micelio recogido en el tamiz se lleva al equipo de filtración por membrana, con ayuda de un frasco lavador y teniendo cuidado de no derramar la muestra fuera del equipo, se aplica vacío para extraer el agua y solo dejar el micelio sobre el filtro.



En el equipo de filtración se colocan los filtros de nitrocelulosa de 1,2  $\mu\text{m}$  de poro, que será utilizado para recoger el micelio. Dicho equipo debe estar previamente purgado con agua antes de iniciar el proceso. Para teñir la muestra, con la llave de paso cerrada y el vacío suspendido, se agrega 2 ml de solución de tinta al 5% en vinagre, se dejan en contacto por 10 minutos y luego de este tiempo, se aplica nuevamente vacío para eliminar el colorante y sin lavar la muestra, se agregan 10 ml de agua acidificada con unas gotas de vinagre, que se dejan durante 20 minutos, para fijar el colorante.

Terminado el proceso, se remueven los filtros de nitrocelulosa y se colocan sobre portaobjetos previamente rotulados, se observa en el estereoscopio y en el microscopio para su adecuada lectura.

### **Cuantificación del ME obtenido de muestras de suelo**

Se usa un microscopio óptico con objetivo de 20X (u otro objetivo que le permita obtener buena resolución), un ocular de 10X y una cuadrícula de 10 X 10 posicionada en uno de los oculares. Para estimar la longitud del ME, cada filtro debe ser abarcado por 70 campos visuales, los cuales pueden ser seleccionados realizando movimientos en zigzag (En el caso de usar un objetivo diferente debe calcularse el número de campo suficiente para realizar una estimación adecuada de la longitud del ME haciendo uso de la estadística). En cada campo visual, utilizando la cuadrícula previamente instalada, se cuentan los interceptos entre hifas y líneas impares, tanto horizontales como verticales (líneas 1, 3, 5, 7, 9).

Para cuantificar ME se emplea el método de Tennant (1975), considerando las dimensiones de la cuadrícula y los factores involucrados en la ecuación, que para el caso de usar un objetivo de 20X, se muestra a continuación (Torres 2000).

- **Longitud total del eje x o y de la cuadrícula**= 0.06mm x 10 líneas =0.6 mm x línea.
- **Área neta del filtro (FA)** = 210 mm<sup>2</sup>

- **Área del filtro cubierta por los 70 campos leídos = (CA)** =  $((5 \times 0.06)^2 \times 70)$   $\text{mm}^2 = 21 \text{ mm}^2$
- **Longitud total de hifas sobre un filtro (HL)**  $\text{HL} = ((\text{H}/\text{CA}) \times \text{FA}) \text{ mm}$
- Según Tennant (1975), la longitud total de las hifas sobre el área del filtro cubierta por los 70 campos leídos es  $\text{H} = ((11/14) \times \text{N} \times 0.06)$  mm, donde N = número total de interceptos sobre la línea de lectura Y.
- **Longitud total de hifas sobre un filtro HI** =  $((\text{H}/\text{CA}) \times \text{FA}) \text{ mm}$ .
- **Longitud total de las hifas ara una muestra TI** =  $(\text{HI} / \text{factor de dilución}) / 1000$  m/g de suelo seco para el cálculo del factor de dilución se usó un valor de 0.0066.
- **Para una muestra (T)**  $\text{TL} = (\text{HL} / 0.066 / 1000)$  m/g suelo seco.

## I. Anexo: Resumen de análisis de varianza para variables evaluadas.

### A Variable dependiente. Nitrógeno inorgánico (Ni).

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	34.7830624	0.2464 ns
Tratamiento	4	36.3169319	0.2209 ns
Rep *Trat	8	16.4873022	0.6779 ns
Muestreo	2	375.8949106	<.0001**
Muest * Trat	8	40.8708316	0.1439 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 4.151

C V = 6.878

R<sup>2</sup> = 0.754

### B. Variable dependiente. Contenidos amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>).

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.01446079	0.8180 ns
Tratamiento	4	0.07768505	0.3882 ns
Rep *Trat	8	0.05185554	0.6661 ns
Muestreo	2	8.95156463	<.0001**
Muest * Trat	8	0.03280407	0.8694 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 8.802

C V = 8.217

R<sup>2</sup> = 0.929

**C. Variable dependiente Contenidos de nitrato (NO<sub>3</sub>).**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.73727037	0.0620 ns
Tratamiento	4	0.06966008	0.8726 ns
Rep *Trat	8	0.54275218	0.0571 ns
Muestreo	2	6.61620749	<.0001**
Muest * Trat	8	0.13897336	0.7636 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 6.634

C V = 16.562

R<sup>2</sup> = 0.816

**D. Variable dependiente. Nitrógeno orgánico (N<sub>org</sub>).**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	34.7830624	0.2431 ns
Tratamiento	4	36.3169319	0.2218 ns
Rep *Trat	8	16.4873022	0.6743 ns
Muestreo	2	375.8949106	<.0001**
Muest * Trat	8	40.8708316	0.1447 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 5087.5

C V = 6.878

R<sup>2</sup> = 0.754

**E. Variable dependiente. Nitrógeno total (N<sub>t</sub>).**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	35.0530022	0.2431 ns
Tratamiento	4	36.1517337	0.2218 ns
Rep *Trat	8	16.5513071	0.6743 ns
Muestreo	2	372.4885037	<.0001**
Muest * Trat	8	40.6916093	0.1447 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 5103.7

C V = 6.858

R<sup>2</sup> = 0.754

**F. Variable dependiente. Tasas de mineralización neta total.**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.00025005	0.4305 ns
Tratamiento	4	0.00028334	0.5295 ns
Rep *Trat	8	0.00013329	0.5093 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); ns = diferencias no significativas

Media = -0.0461

C V = 6.551756

$R^2$  = 0.800

**G. Variable dependiente. Tasas de mineralización neta puntual.**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.02312965	0.1676 ns
Tratamiento	4	0.00518380	0.7795 ns
Rep *Trat	8	0.00799488	0.7071 ns
Muestreo	2	0.88787384	<.0001**
Muest * Trat	8	0.00478116	0.9049 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); ns = diferencias no significativas

Media = 0.358

C V = 9.220

$R^2$  = 0.891

**H. Variable dependiente. Tasas de nitrificación neta.**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.01479402	0.8798 ns
Tratamiento	4	0.01441791	0.9772 ns
Rep *Trat	8	0.00013761	0.9250 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); ns = diferencias no significativas

Media = 0.0454

C V = 0.677

$R^2$  = 0.800

**I. Variable dependiente. Poblaciones de BOA.**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.06577533	0.5282 ns
Tratamiento	4	0.22072700	0.1043 ns
Rep *Trat	8	0.18376715	0.1280 ns
Muestreo	2	1.59458211	<.0001**
Muest * Trat	8	0.36995761	0.0082*

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 22103

C V = 12.271

R<sup>2</sup> = 0.8122

**J. Variable dependiente. Poblaciones de BON.**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.29680016	0.4190 ns
Tratamiento	4	0.58192365	0.1721 ns
Rep *Trat	8	0.22353396	0.7002 ns
Muestreo	2	0.49368489	0.2447 ns
Muest * Trat	8	0.41808901	0.3079 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 27963

C V = 19.989

R<sup>2</sup> = 0.580

**K. Variable dependiente. Poblaciones de bacterias nitrificantes.**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.37101623	0.2361 ns
Tratamiento	4	0.38256399	0.2130 ns
Rep *Trat	8	0.36675652	0.2074 ns
Muestreo	2	0.75964229	0.0633 ns
Muest * Trat	12	0.43687831	0.4312 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 35785

C V = 13.387

R<sup>2</sup> = 0.646

**L. Variable dependiente. (CT) de HMA (%)**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	1.0058721	0.4849 ns
Tratamiento	4	2.5781050	0.1457 ns
Rep *Trat	8	2.3007124	0.1558 ns
Muestreo	2	61.0464379	<.0001**
Muest * Trat	8	0.1439473	0.9985 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 56.760

C V = 15.134

R<sup>2</sup> = 0.851

**M. Variable dependiente. (MV) de HMA (%)**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.1516525	0.7637 ns
Tratamiento	4	4.8028905	0.0003**
Rep *Trat	8	0.1615488	0.9609 ns
Muestreo	2	58.3928354	<.0001**
Muest * Trat	8	0.2574279	0.8671 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 60.767

C V = 9.452

R<sup>2</sup> = 0.924

**N. Variable dependiente. Longitud de (ME) de HMA.**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Repetición	2	0.57030945	0.0957 ns
Tratamiento	4	0.21064477	0.4423 ns
Rep *Trat	8	0.09133666	0.8932 ns
Muestreo	2	2.46232446	0.0005**
Muest * Trat	8	0.39896945	0.1263 ns

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas (P≤0.05); ns = diferencias no significativas

Media = 4.257

C V = 18.946

R<sup>2</sup> = 0.715

118 Efecto de abonos verdes sobre la dinámica de hongos micorrizógenos (HMA) y bacterias nitrificantes en un ciclo de cultivo de maíz, *Zea mays* L.

---

**N. Variable dependiente. Biomasa seca de maíz acumulada.**

Fuente de variación	GL	CM	Pr > F
Modelo	4	7.5232266	0.0957 ns
gError	10	0.5263866	0.0004**
Total corregido	14		

\*\*Diferencias altamente significativas; \*Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); ns = diferencias no significativas

Media = 4.964

C V = 14.613

$R^2$  = 0.851



## J. Anexo: Correlaciones para variables evaluadas

Coeficientes de correlación Pearson, N = 45 Prob >  r  suponiendo H0: Rho=0													
VARIABLES	N <sub>t</sub>	N <sub>org</sub>	N <sub>i</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Tasas de Min neta p	BOA	BON	Total nitrificantes	CT	MV	ME	Precipitación
N total (N <sub>t</sub> ) (mg/kg suelo seco)	1.00000	0.99996 <.0001**	-0.05169 0.7359	-0.16746 0.2715	0.06552 0.6689	0.34429 0.0206*	-0.14777 0.3327	0.31699 0.0339*	0.18239 0.2305	0.52031 0.0002**	0.58748 <.0001**	-0.28663 0.0563*	-0.03391 0.8250
N orgánico (mg/kg suelo seco)		1.00000	-0.06025 0.6942	-0.17511 0.2499	0.05765 0.7068	0.35128 0.0180*	-0.15045 0.3239	0.31762 0.0335*	0.18127 0.2334	-0.13413 0.3797	0.59041 <.0001**	-0.28663 0.0563*	-0.02674 0.8616
N inorgánico (N <sub>i</sub> ) (mg/kg suelo seco)			1.00000	0.90078 <.0001**	0.91425 <.0001**	-0.83394 <.0001**	0.32043 0.0319*	-0.09190 0.5483	0.12039 0.4308	-0.37667 0.0108*	-0.37347 0.0115*	0.38880 0.0083**	-0.84559 <.0001**
Amonio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) (mg/kg suelo seco)				1.00000	0.64759 <.0001**	-0.90852 <.0001**	0.35965 0.0152*	-0.10958 0.4736	0.12955 0.3963	-0.56465 <.0001**	-0.53774 0.0001**	0.43904 0.0026**	-0.03391 0.8250
Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) mg/kg suelo seco					1.00000	-0.61567 <.0001**	0.22669 0.1343	-0.05901 0.7002	0.09038 0.5549	-0.13413 0.3797	-0.15363 0.3137	0.27260 0.0700	-0.67276 <.0001**
Tasa miner neta Puntual (mg/kg suelo seco)						1.00000	-0.36889 0.0126*	0.22368 0.1397	-0.03646 0.8120	0.63483 <.0001**	0.69155 <.0001**	-0.52084 0.0002**	0.70075 <.0001**
BOA (ufc/g suelo seco)							1.00000	-0.12959 0.3962	0.51191 0.0003**	-0.13291 0.3841	-0.16134 0.2897	0.40572 0.0057**	-0.49371 0.0006**
BON (ufc/g suelo seco)								1.00000	0.78546 <.0001**	0.23818 0.1151	0.31302 0.0363*	-0.02015 0.8954	0.06467 0.6730
Población de B. nitrificantes (ufc/g suelo seco)									1.00000	0.12339 0.4194	0.17048 0.2629	0.23578 0.1189	-0.25214 0.0947
CT de HMA (%)										1.00000	0.74342 <.0001**	-0.33635 0.0239*	0.29846 0.0464*
MV de HMA (%)											1.00000	-0.32196 0.0310*	0.21559 0.1549
Longitud de ME (m/g suelo seco)												1.00000	-0.42351 0.0037**
Precipitación (mm)													1.00000



\*\*Relaciones altamente significativas



\*Relaciones significativas

## Bibliografía

ABBOTT, L. and MURPHY, D. Soil biological fertility: A Key to Sustainable Land Use in Agriculture. Crawley, Australia: Springer publishers, 2007. 280 p.

ACERO DE MESA, N. Estudio de las Rizobacterias de vicia Villosa Roth: optimización de la productividad por técnicas biológicas. Tesis de Doctorado. Madrid: Universidad San Pablo CEU, 1997. 315 p.

AGUILERA, L.; OLALDE, V.; ARRIAGA, R. y CONTRERAS, A. Micorrizas arbusculares. En: *Ciencia Ergo Sum*, 2008, vol. 14, no. 003, p. 300-306.

ARARAT, M. Efecto de la aplicación de residuos agroindustriales (sust – prot) en algunas propiedades físicas y químicas del suelo y su relación con la producción de maíz (*Zea mays*). Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2006. 78 p.

ARP, D. and STEIN, L. Metabolism of inorganic N compounds by Ammonia-oxidizing bacteria. In: *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 2003, vol. 38, no. 6, p. 471- 492.

ASTIER, M.; MAASS, J.; ETCHEVERS, B.; PEÑA, J. and GONZÁLEZ, F. Short-term green manure and tillage management effects on maize yield and soil quality in an Andisol. In: *Soil and Tillage Research*, 2006, vol. 88, p. 153-159.

ATUL-N, A.; HAMEL, C.; HANSON, K. and GERMIDA, J. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. In: *Mycorrhiza*, 2009, vol. 19, no. 4, p. 239- 246.

BALIGAR, V. and FAGERIA, N. Agronomy and Physiology of Tropical Cover Crops. In: *Journal of Plant Nutrition*, 2007, vol. 30, p. 1287 – 1339.

BARRETO, H., PEREZ, C., FUENTES, M., QUEME, J. y LARIOS, L. Efecto de dosis de urea-N en el rendimiento del maíz bajo un sistema de rotación con leguminosas de cobertura. En: *Agronomía Mesoamericana*, 1994, vol. 5, p. 88-95.

BARRETT, G.; CAMPBELL, C.; FITTER, A. and HODGE, A. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus hoi* can capture and transfer nitrogen from organic patches to its associated host plant at low temperature. In: *Applied Soil Ecology*, 2011, vol. 48, no. 1, p. 102- 105.

BARRETO, H., PEREZ, C., FUENTES, M., QUEME, J. y LARIOS, L. 1994. Efecto de dosis de urea-N en el rendimiento del maíz bajo un sistema de rotación con leguminosas de cobertura. En: *Agronomía mesoamericana*, vol. 5, p. 88-95.

BARRIOS, M.; GARCÍA, J. y BASSO, C. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el contenido de nitrato y amonio en el suelo y la planta de maíz. En: *Bioagro*, 2012, vol. 34, no 3, p. 213-220.

BOCK, E. and KOOPS, H. The genera *Nitrobacter* and related genera. In: A. BALOWS; H. TRÜPER; M. DWORKIN; W. HARDER AND K. SCHLEIFER (eds). *The Prokaryotes*. 2 ed. New York: Springer-Verlag. 1992. p. 2302 - 2309.

BOCK, E.; KOOPS, H.; HARMS, H. and AHLERS, B. The biochemistry of nitrifying microorganism. In: J. M. SHIVELY AND L. L. BARTON (eds). *Variations in autotrophic life*. London: Academic Press, 1991. p. 171 - 200.

BRADY, N. and WEIL, R. *Elements of the nature and properties of soils*. 2 ed. New Jersey: Pearson-Prentice Hall, 2004. 606 p. ISBN 0-13-048038-X

BUNCH, R. El uso de abonos verdes por agricultores campesinos: Lo que hemos aprendido hasta la Fecha [en línea]. Informe técnico no. 03, segunda edición CIDICCO. 1994. (Consultado el 10 de Octubre de 2011). Disponible en internet: <http://www.cidicco.hn/archivospdf/Inftecnic03.pdf>.

BRUNDRETT, M. Mycorrhizal associations: The Web Resource[on line]. Section 7. Roles of mycorrhizal associations. 2008. (Consultada 25 de Octubre de 2012). Disponible en internet: <<http://mycorrhizas.info/roles.html>>.

BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T. and MALAJCZUK, N. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture [en línea]. Australian Centre for International Agricultural Research, 1996. (Consultada en octubre de 2012). Disponible en internet: <[www.ffp.csiro.au/research/mycorrhizas/index.html](http://www.ffp.csiro.au/research/mycorrhizas/index.html)>.

CABRERA, M. Mineralización y Nitrificación: Procesos claves en el ciclo del nitrógeno. En: Informaciones Agronómicas del cono Sur, 2007, vol. 34, 9 p.

CADENA PRODUCTIVA DEL MAÍZ. Industrias de alimentos balanceados y harina de maíz. Superintendencia de industria y comercio, 2011. 42 p

CAMPUZANO, F y NAVAS, A. Cultivo de Maíz. Serie de Libros 500 preguntas. Publicaciones CORPOICA, 2007.19 p.

CICEANA (CENTRO DE INFORMACION Y COMUNICACIÓN AMBIENTAL DE NORTE AMÉRICA, C.A). Dinamica de la Tierra Ciclo del Nitrogeno [en línea]. México, D.F. 2009. (Consultada Julio 20 de 2013). Disponible en internet: <<http://www.ciceana.org.mx/recursos/ciclo%20del%20nitrogeno.pdf>>.

CIDICCO (CENTRO INTERNACIONAL DE INFORMACIÓN SOBRE CULTIVOS DE COBERTURA). Catálogo de Abonos verdes/cultivos de cobertura (CCAV) empleados por pequeños productores de los trópicos [en línea]. Honduras, 2003. 17 p. (consultada Octubre 25 de 2012). Disponible en internet: <<http://www.cidicco.hn/archivospdf/Catalogo%20AVCC%202003.pdf>>.

CLARK, A. Managing cover crops profitably. 3 ed. Beltsville: Sustainable Agriculture Network, 2007. 244 p. (Sustainable agriculture network handbook series).

COBO, J.; BARRIOS, E.; KASS, D. and THOMAS, R. Nitrogen mineralization and crop uptake from surface-applied leaves of green manure species on a tropical volcanic-ash soil. In: Biology and fertility of soils, 2002, vol. 36, no. 2, p. 87 – 92.

CONFECAMPO (CONFEDERACIÓN EMPRESARIAL DEL CAMPO DE COLOMBIA) -. Estudio de mercado de maíz en Colombia. 2008 [en línea]. (Consultada julio 19 de 2013). Disponible en internet: <<http://www.confecampo.com/estadisticas/COOAGROCAMPO--MAIZ.ppt>>.

COSTA, M.; CALEGARI, A.; MONDARDO, A.; BULISANI, E. A.; WILDNER, L. DO P.; ALCÂNTARA, P.B.; MIYASAKA, S. y AMADO, T.J.C. Adubação verde no sul do Brasil. Rio de Janeiro: ASPTA, 1992. 346 p.

COYNE, M. Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio. Madrid: Editorial Paraninfo, 2000. 416 p.

CRAINE, J.; MORROW, C. and FIERER, N. Microbial nitrogen limitation increases decomposition. In: Ecology, 2007, vol. 88, p. 2105 - 2113.

CRESPO, L. y PAZ, J. Identificación y caracterización de *Rhizobium* nativo para la producción de biofertilizante en la provincia de Santa Elena. Ecuador: Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agropecuaria. Carrera de Ingeniería Agropecuaria, 2012.74 p.

CUESTA, P. y VILLANEDA, E. El análisis de suelos: toma de muestras y recomendaciones de fertilización para la producción ganadera. Tomado del manual técnico “Producción y utilización de recursos forrajeros en sistemas de producción bovina de las regiones Caribe y Valles interandinos”. s.f. 10 p.

DE BOER, W. and KOWALCHUK, G. Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms. In: Soil Biology & Biochemistry, 2001, vol.33, p. 853 -866.

DINESH, R. and DUBEY, R. Nitrogen mineralization rates and kinetics in soils freshly amended with Green manures. In: Journal of agronomy and crop science, July, 1998, vol. 181, no. 1, p. 49-53.

DHIMA, K.; VASILAKOGLU, J.; GATSI, Th.; PANOU-PHILOTHEOU, E. and ELEFTHEROHORINOS, I. Effects of aromatic plants incorporated as green manure on weed and maize development. In: Field Crops Research, 2009, vol. 110, no.3, p. 235-241.

DOUXCHAMPS, S.; FROSSARD, E.; BERNASCONI, S.; VAN DER HOEK, R.; SCHMIDT, A.; IDUPULAPATI, R. and OBERSON, A. Nitrogen recoveries from organic amendments in crop and soil assessed by isotope techniques under tropical field conditions. In: Plant and soils, 2011, vol. 341, no. 1/2 p. 179-192.

ESTRADA, J. Pastos y forrajes para el trópico colombiano. Manizales: Universidad de Caldas, 2002. 586 p.

ESTUDIO DE MERCADO DE MAÍZ EN COLOMBIA. CONFECAMPO, 2008. Disponible en <http://www.confecampo.com/estadisticas/COOAGROCAMPO--MAIZ.ppt>

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). Agricultura de conservación. 1 ed. Managua: FAO-Nicaracoop, 2010. 52 p.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). Current world fertilizer trends and outlook to 2015. The world fertilizer Outlook. Roma: FAO, 2011. 41 p.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos [en línea]. Boletín de Tierras y Aguas. No. 8. 2000. 226 p. (Consultada Agosto 18 de 2012). Disponible en internet: <[http://www.fao.org/ag/ags/AGSE/agse\\_s/7mo/iita/iita.htm](http://www.fao.org/ag/ags/AGSE/agse_s/7mo/iita/iita.htm)>

GALLEGO J.; PRAGER M., SÁNCHEZ DE P. Efectos de dos abonos verdes sobre la mineralización del nitrógeno y la dinámica de las bacterias oxidantes del amonio y del nitrito en un ciclo productivo de maíz, *Zea mays* L. Memorias, II congreso internacional de agroecología. VI congreso nacional de agroecología 2010. Universidad del Cauca Popayán, Colombia.

GALLEGO, J. Efecto de dos abonos verdes sobre la mineralización del Nitrógeno y la dinámica de bacterias oxidantes del amonio y del nitrito en un ciclo de cultivo de maíz *Zea mays* L. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2012. 122 p.

GARCÍA, F. Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo de maíz. En: Jornada "Maíz 2005" (1 de Julio: Córdoba). Memorias. Córdoba: Capacitación Agropecuaria. 2005. 19 p.

GARCÍA, M.; ÁLVAREZ, M. y TRETO, E. Estudio comparativo de diferentes especies de abonos verdes y su influencia en el cultivo del maíz. En: Cultivos Tropicales, 2002, vol. 23, no, 3, p. 19-30.

GARRIDO, E.; BENNETT, A.; FORNONI, J. and STRAUSS, S. Variation in arbuscular mycorrhizal fungi colonization modifies the expression of tolerance to aboveground defoliation. In: Journal of Ecology, 2010, vol. 98, p. 43 - 49.

GÓMEZ, S. Identificación de especies arvenses en un cultivo de maíz con manejo agroecológico. Tesis Ingeniería Agronómica. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2012. 70 p.

GÓMEZ, E.; PRAGER, M.; SANCHEZ DE P., M.; VICTORIA, T. y ZAMORANO, A. El suelo y los abonos verdes, una alternativa de manejo ecológico. Serie Cuadernos ambientales No. 7. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. 2002. 18 p.

GUZMÁN, G.; CASADO, A. y MIELGO, A. Buenas prácticas en producción ecológica uso de abonos verdes. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, 2008. 22 p.

GRANADA, D.; MORENO, B.; GARCÍA, A. y MEJÍA, J. Sistema: " Frijol relevo maíz", intercalado en zocas de café, Una opción para diversificar la producción. Cenicafé, 2008.10 p. (Avances técnicos; no. 375).

HODGE, A.; HELGASON, T. and FITTER, A. Nutritional ecology Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107, 13754e13759 of arbuscular mycorrhizal fungi. In: Fungal Ecology, 2010, vol. 3, p. 267- 273.

IFA (Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes). Perspectiva de la industria de los fertilizantes a corto plazo 2010-2011 [en línea]. 2010. Disponible en internet: <<http://www.fertilizer.org/ifa>, 2010>.

JOHANSEN, A.; JAKOBSEN, I. and JENSEN, E. Hyphal transport of <sup>15</sup>N-labelled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. In: New Phytologist, 1992, vol. 122, p. 281 -288.

JOHNSON, N. and GEHRING, C. Mycorrhizas: symbiotic mediators of rhizosphere and ecosystem processes. In: Z. CARDON AND J. WHITBECK (eds). The Rhizosphere: An Ecological Perspective. Burlington: Elsevier Academic Press, 2007. p. 73 – 100.

JOHANSEN, A.; JAKOBSEN, I. and JENSEN, E. Hyphal transport of <sup>15</sup>N-labelled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. In: New Phytologist, 1992, vol. 122, p. 281 -288.

JOHNSON, N. and GEHRING, C. Mycorrhizas: symbiotic mediators of rhizosphere and ecosystem processes. In: Z. CARDON AND J. WHITBECK (eds). The Rhizosphere: An Ecological Perspective. Burlington: Elsevier Academic Press, 2007. p. 73 – 100.

KABIR, Z.; O'HALLORAN, I.; FYLES, J. and HAMEL, C. 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. In: Agriculture, Ecosystems & Environment, 1998, vol. 68, p. 151–163.

KELTER, P. El nitrógeno en la lluvia nacional. Illinois: National Atmospheric Deposition Program NADP. 2001. 16 p.



KRIJMRNEI, A. and HARMS, H. Effect of organic matter on growth and cell yield of ammonia oxidizing bacteria. In: Arch. Microbiol, 1982, vol.133, p. 50-54.

LABRADOR, J. La materia orgánica en los agrosistemas. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación – Mundi Prensa, 2001. 293 p.

LEIGH, J.; HODGE, A. and FITTER, A. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. In: New Phytologist, 2009, vol. 181, p. 199 - 207.

LITTERICK, A.; HARRIER, L.; WALLACE, P.; WATSON, C. and WOOD, M. The Role of Uncomposted Materials, Composts, Manures, and Compost Extracts in Reducing Pest and Disease Incidence and Severity in Sustainable Temperate Agricultural and Horticultural Crop Production—A Review. In: Critical Reviews in Plant Sciences, 2004, vol. 23, no. 6, p. 453–479.

MADERO, E.; GÓMEZ, E. y SÁNCHEZ DE P., M. Propiedades físicas y químicas, algunas características del suelo a ser tomadas en cuenta en la finca: índice hídrico e índice de protección. En: Cuadernos ambientales, 2003, no. 9, p. 3-14.

MADIGAN, M.; MARTINKO, J. y PARKER, J. Brock, Biología de los microorganismos. 10<sup>a</sup> ed. Madrid: Pearson- Prentice Hall, 2003. 1012 p. ISBN 84-205-3679-2.

MARÍN, E. Poblaciones de ácaros y colémbolos en un suelo *Humic Dystrudepts* con incorporación de abonos verdes y cultivado con maíz, *Zea mays* L. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias con énfasis en Suelos. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2013. 132 p.

MARTÍN, G.; JANAINA, R.; COSTA, U. y RIVERA, R. Rotación del abono verde *Canavalia ensiformis* con maíz y micorrizas arbusculares en un suelo nitisol ródico éutrico de cuba. En: Agronomía Tropical, 2007, vol 57, no. 4, p 313-321.

MARTÍN, G.; RIVERA, R.; ARIAS, L. y RENTERÍA, M. Efecto de la *Canavalia ensiformis* y micorrizas arbusculares en el cultivo del maíz. En: Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 2009, vol. 43, no. 2, p. 191-199.

MARTÍNEZ, L.; BELLO, P.; RODRÍGUEZ, O. y CASTELLANOS, O. El valor agregado de la agricultura orgánica. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2012. 236 p

MCNEILL, A. and UNKOVICH, M. The Nitrogen Cycle in Terrestrial Ecosystems In: MARSCHNER, P and RENGEL, Z. (eds). Soil Biology. Nutrient cycling in terrestrial ecosystems. Berlin: Springer-Verlag, vol. 10, 2007. p. 37 – 64.

MENJÍVAR, J. Química y Fertilidad de Suelos [diapositivas]. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, 2012. 23 diapositivas.

MIN. AGRICULTURA, DANE y SISAC. Censo de los cultivos de Algodón, Sorgo, Soya, Maíz amarillo tecnificado y yuca para uso industrial [en línea]. Investigación regional Costa Norte y zona plana cálida. 2001. (Consultada Julio de 2009). Disponible en internet:<[http://190.25.231.247/books/LD\\_1067\\_2000\\_2001\\_V\\_3.PDF](http://190.25.231.247/books/LD_1067_2000_2001_V_3.PDF)>.

MIN. AGRICULTURA. Comunicado de la presidencia de la república: MinAgricultura puso en marcha el plan 'País Maíz', para fortalecer la seguridad alimentaria de Colombia [en línea]. Abril de 2011, disponible en: [http://wsp.presidencia.gov.co/Prensa/2011/Abril/Paginas/20110402\\_06.aspx](http://wsp.presidencia.gov.co/Prensa/2011/Abril/Paginas/20110402_06.aspx)

MILTON, N. Bacteria transform ammonium to nitrate in soil. The University of Western Australia. Soils are Alive Newsletter 2001, vol. 2, no.1. 3 p.

MILLER, R. and JASTROW, J. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In: KAPULNIK, Y. and DOUDS, D. (eds). Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 3 - 18.

MOLINA, S. Efecto en la actividad biológica del suelo al usar abono verde y compost, en un cultivo de maíz (*Zea Mays*) en zona de ladera. Trabajo de Grado Ingeniero Agrónomo. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2012. 36 p.

MOSAVI, S.; JAFARZADEH, A.; NISHABOURI, M.; OSTAN, S. and FEIZIASL, V. Application of Rye green manure in Wheat rotation system alters soil water content and chemical characteristics under dry land condition. In: Journal of biological Science, 2009, vol.12, no 2, p. 178-182.

NEGRETE, F. y MORALES, J. El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda Smith*). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica y Universidad del Sinú. Cartilla ilustrada. 2003. no. 3. 26 p.

NEILL, C.; PICCOLO, M.; CERRI, C.; STEUDLER, P.; MELILLO, J. and BRITO, M. Net Nitrogen mineralization and net nitrification rates in soils following deforestation for pasture across the southwestern Brazilian Amazon Basin land scape. In: Oecologia, 1997, vol. 110, p. 243-252.

NEWSHAM, K.; FITTER, A. and WATKINSON, A. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. In: Trends in Ecology and Evolution, 1995, vol.10, no. 10, p. 407-411.

NUÑEZ, O.; SILVA, M.; BUSTAMANTE, D. y PERÉZ, C. Arroz con abonos verdes, una unión productiva. En: Revista ARROZ, Julio- Agosto, 2010, vol. 58, no. 487, p. 9-20.

OROZCO, F. La biología del nitrógeno, conceptos básicos sobre sus transformaciones biológicas. Tomo I. Medellín: Universidad Nacional de Colombia, 1999. 231 p.

ORTEGA, D y CORVALÁN, E. Diagnóstico de suelos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Salta: Estación Experimental Agropecuaria Salta, s.f. 5 p.

PAGE, A.; MILLER, R. and KEENEY D. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2 ed. Wisconsin: American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, 1982. (Agronomy series; no. 9).

PAZ, I. y SÁNCHEZ DE P., M. Relación entre la longitud de micelio externo de hongos micorrízico y algunas propiedades del suelo bajo dos sistemas de sombrero en café, meseta de Popayán, Colombia. En: Unicauca, 2007, vol. 5, no.1, p. 64-69.

PÉREZ, A. y VERTEL, M. Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. En: Rev. MVZ Córdoba, 2012, vol.15, no.3, p. 3024 – 3032. ISSN-e 1909-0544. (Consultado 25 de Agosto de 2012). Disponible en internet: <<http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-172/V17N2A10.pdf>>.

PHILIPPOT, L. and GERMON, J. Contribution of Bacteria to Initial Input and Cycling of Nitrogen in Soils. In: BUSCOT, F. and VARMA, A. (eds). Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions. New Delhi: Springer-Verlag, 2005. p .159 – 172.

PRAGER M.; VICTORIA, J.A.; SÁNCHEZ DE P., M. El suelo y los Abonos Verdes, una alternativa de manejo ecológico. Cuadernos ambientales No. 7. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira y Ministerio de Agricultura. . 2002, p. 4-16.

PRAGER, M.; SANCLEMENTE, O.; SÁNCHEZ DE P, M.; GALLEGO, D. y ÁNGEL, D. Abonos verdes: tecnología para el manejo agroecológico de los cultivos. En: Agroecología, 2012, vol. 7, p. 53-62.

RAO, I. Essential plant nutrients and their functions. Working document No. 29. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, September 2009. 36 p.

REYES, I. Asociaciones biológicas en el suelo: la micorriza arbuscular (MA). En: Contactos, 2002, vol., 44, p. 5 -10.

REYES, J. Micelio Externo de Hongos Micorrícicos Arbusculares y su potencial influencia en la recuperación de suelos degradados de laderas del Cauca, Colombia. Tesis de Maestría. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2001. 88 p.

RODRIGUEZ, B. y BERMUDEZ, C. Sistemas quimiolitotróficos, departamento de microbiología del suelo, centro de edafología y biología aplicada C.S.I.C. Tesis capitulo 4 de biología molecular. Madrid: Universidad Complutense, 1979.

RODRÍGUEZ, C.; TORO, M.; MARTÍNEZ, M. y MERCADO, R. Estandarización de Condiciones para la Prueba Cuantitativa del NMP con bacterias nitrificantes y denitrificantes usando Como matriz compost. En: Universitas Scientiarum, 2007, vol. 12, no. 2, p. 69 - 81. (Consultado en septiembre 4 de 2012). Disponible en: <<http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4867/3747>>

SALAMANCA, W. Efecto de la incorporación de abonos verdes sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de un Vertisol ústico en las condiciones del valle del cauca. Trabajo de grado Ingeniero agrónomo. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2003. 77 p.

SÁNCHEZ DE P. Las endomicorrizas: expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 2007.351 p.

SÁNCHEZ DE P., M. Actividad biológica en la rizósfera del maracuyá-*Pasiflora edulis* var. Flavicarpa en diferentes sistemas de manejo, estados de desarrollo y condiciones fitosanitarias. Tesis Doctoral. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, 2003. 261 p.

SÁNCHEZ DE P., M. Endomicorrizas en algunos agroecosistemas de Colombia. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Cali: Editorial Feriva, 1999. 227 p.

SÁNCHEZ DE P., M. y REYES, J. El Micelio Externo de los Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular (HMA) como Red Nutricional y Estructural en los Agroecosistemas. En: Rev. Bras. de Agroecología, 2009, vol. 4, no. 2, 6 p.

SANCHEZ DE P., M. y VELASQUEZ, D. Las micorrizas: el micelio externo de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA). Cuadernos Ambientales número 12. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 2008. 16 p.

SÁNCHEZ DE P., M.; POSADA, R.; VELÁSQUEZ, D. y NARVÁEZ, M. Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 2010. 139 p.

SANCLEMENTE, O. Efecto del cultivo de cobertura: *Mucuna pruriens*, en algunas propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo *típica haplustalfs*, cultivado con maíz (*Zea mays* L.) en zona de ladera del municipio de Palmira, Valle. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias con énfasis suelos. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2009. 67 p.

SANGAKKARA, U.; LIEDGENS, A.; SOLDATI, A. and STAMP, P. Root and Shoot Growth of Maize (*Zea mays*) as affected by incorporation of *Crotalaria juncea* and *Tithonia diversifolia* as green manures. In: Journal of Agronomy & Crop Science, 2004, vol. 190, p. 339 - 346.

SARABIA, M.; OCHOA, R.; PEDRAZA, M.; MARTÍNEZ, M.; y CARREÓN, Y. Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. In: Biológicas, 2010, vol. 12, no. 1, p. 65 – 71.

SHARMA, B. and ABLER, R. Nitrification and nitrogen removal. In: Waf. Res, 1977, no. 11, p. 897-925.

SCHMIDT, E. and BELSER, L. Nitrifying bacteria. Methods of soil analysis: Part 2, Microbiological and biochemical properties. In: Soil Science Society of America book series no. 5. Madison: Soil Science Society of America (SSSA), Inc., 1994. p. 1027 – 1042.

SMITH, F. and SMITH, S. Structural diversity in (vesicular) - arbuscular mycorrhizal symbioses. In: New Phytology, 1997, vol. 137, p. 373- 388.

SERRALDE, A y RAMÍREZ, M. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. En: Revista Corpoica, 2004, vol. 5, no. 1, p. 31 - 40.

SOCIEDAD DE AGRICULTORES DE CHILE. Boletín de Agricultura y abonos verdes No. 18. [Consultado el 02 de Marzo de 2012]. Disponible en: [http://www.abcagro.com/fertilizantes/abonos\\_verdes.asp](http://www.abcagro.com/fertilizantes/abonos_verdes.asp)

SSSA (SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA). Methods of Soil Analysis: Part 1. Physical and Mineralogical Methods. 2 ed. Wisconsin: SSSA, 1986. 1188 p. (Sssa Book Series; no. 5).

STARK, C.; CONDRON, L.; O'CALLAGHAN, M.; STEWART, A. and HONG, J. Differences in soil enzyme activities, microbial community structure and short-term nitrogen mineralization resulting from farm management history and organic matter amendments. *In: Soil Biology & Biochemistry*, 2008, vol. 40, p. 1352 -1363.

STAVROS D.; VERESOGLOU, A.; BAODONG, C. and MATTHIAS, C. Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling. *In: soil biology & biochemistry*, 2012, vol. 46, p. 56 – 62. (Consultado 13 de marzo de 2012). Disponible en internet: <<http://www.elsevier.com/locate/soilbio>>.

SULLIVAN, Preston. Overview of cover crops and Green manures; Fundamentals of sustainable agriculture. Fayetteville, Arkansas: National Center for Appropriate Technology, 2003. p. 1 - 16.

SYLVIA, D.; HARTER, P.; FUHRMANN, J. and ZUBERER, D. Principles and applications of soil microbiology. 2 ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2005. 640 p. ISBN 0-13-094117-4.

TAKAI, T.; HIRATA, A.; YAMAUCHI, K. and INAMOR, Y. Effects of temperature and volatile-Fatty acids on nitrification-denitrification activity in small - scale anaerobic- aerobic. recirculation biofilm process. *In: Water. Sci. Technol*, 1997, vol. 35, p. 101-108.

TEJADA, M.; GONZALEZ, J.; GRACIA, A. and PARRADO, J. Effects of different green manures on soil biological properties and maize yield. *In: Bioresource Technology*, 2008, vol. 99, p. 1758–1767.

TORRES, R. 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. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 2000. 89 p.

TRINIDAD, E. Cuantificación de bacterias nitrificantes, denitrificantes, fijadoras de nitrógeno y heterótrofas de humedales artificiales sub-superficiales para el tratamiento de agua residual. Tesis Microbiología con énfasis en Alimentos. Pamplona: Universidad de Pamplona. Facultad de Ciencias Básicas, 2006. 42 p.

TUGCE, K.; EMINE, U.; GÜÇLÜ, I, and DERIN, O. Is ammonification the rate limiting step for nitrification kinetics? In: Bioresource Technology, 2012, vol. 114, p. 117–125.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). Cover and green manure crop benefits to soil quality technical [en línea]. Note No.1 Abril 1996. (Consultada en agosto de 2010). Disponible en internet: <[http://soils.usda.gov/sqi/management/files/sq\\_atn\\_1.pdf](http://soils.usda.gov/sqi/management/files/sq_atn_1.pdf)>.

VAN BREEMEN, N. and VAN DIJK, H. Ecosystems effects of atmospheric depositio'n of nitrogen in the Netherlands. In: Eviron. Poll, 1988, vol. 54, p.249-274.

VÉLEZ, F. Efecto de abonos verdes en la agregación y micorrización en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) en un suelo de Ladera de Palmira (Colombia). Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias con énfasis Suelos. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2012.96 p.

WARD, B.; ARP, D. and KLOTZ, M. Nitrification. Washington, D.C.: ASM press, 2011. 445 p. ISBN: 9781555817145.

WOOPER, A. and TERRY, K. Hydroxylamine oxidoreductase of *Nitiosomonas europea* production of nitric oxide from hydroxylamine. In: Biochim. Biophys, 1979, vol. 571, p12-20.

ZAPATA, C.; SÁNCHEZ DE P., M. y AZAKAWA, N. Indicadores de actividad biológica en suelos con diferentes grados de intervención en el Ecoparque Cerro de La Bandera. En: Acta agronómica, 2002, vol. 52, no. 1 – 4, p. 45 – 52



ZÁRATE, L. Dinámica temporal en la formación de micelio externo de hongos micorrízico arbusculares y su impacto en la formación de agregados estables al agua. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 2006. 108 p.

ZORNOZA, A.; AVENDAÑO, L.; AGUADO, D.; BORRÁS, L. y ALONSO, L. Análisis de las correlaciones entre la abundancia de bacterias nitrificantes, parámetros operacionales y físico-químicos relacionados con el proceso biológico de nitrificación en fangos activos. Sevilla, España: Asociación científica grupo Bioindicac, 2012. 14 p.