



**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE FUNGICIDAS Y BAGAZO DE
CAÑA SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA y BIOQUÍMICA DE LA
RIZÓSFERA DE AGUACATE (*Persea americana* MILL)**

LUISA FERNANDA QUIROGA ROJAS

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO
DE MAGISTER EN CIENCIAS-BIOLOGÍA**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS-BIOLOGÍA
SANTIAGO DE CALI
2013**

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE FUNGICIDAS Y BAGAZO DE CAÑA
SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA RIZÓSFERA DE AGUACATE
(*Persea americana* MILL)**

LUISA FERNANDA QUIROGA ROJAS

Código: 0903289

Director
MARTHA MARINA BOLAÑOS BENAVIDES
PhD. en Ciencias Agropecuarias
Investigadora CORPOICA

Co-Director
ENRIQUE BRAVO MONTAÑO
PhD en Ciencias-Biología
Profesor titular-Departamento de Biología
Universidad del Valle

UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS-BIOLOGÍA
SANTIAGO DE CALI
2013

Hoja de aceptación

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

DEDICATORIA

LAS NOCHES SIN DORMIR, SOLO SON IMPULSADAS POR PERSONAS QUE LLENAN NUESTRA VIDA DE AMOR Y DE RAZONES PARA CONTINUAR, QUE SOLO AQUELLOS QUE NOS HAN DADO LA VIDA SON CAPACES DE BRINDAR DE LA FORMA MAS SINCERA Y DESINTERESADA. VA DEDICADA A TODO EL ESFUERZO QUE MIS PADRES HAN REALIZADO PARA QUE PUEDA CULMINAR SIN TROPIEZOS UNA ETAPA NUEVA EN MI VIDA, CON MUCHO CARIÑO. VA DEDICADA A MI PAPI TO QUE SIEMPRE CUIDÓ DE MI EN LA TIERRA Y QUE ESTANDO EN LO MAS ALTO DE LAS NUBES ESPERO LO SIGA HACIENDO, A MI MAMITA QUE NOCHE TRAS NOCHE ME HA ENSEÑADO DE QUE A PESAR DE QUE LA VIDA ES DURA, SIEMPRE AL FINAL DEL CAMINO ESTÁ LA LUCESITA QUE NOS GUIA PARA NO PERDERNOS. A MIS HERMANOS Y SOBRINOS QUE HAN LLENADO MI VIDA DE HERMOSOS RECUERDOS.

LUISA FERNANDA QUIROGA

AGRADECIMIENTOS

Sobre todas las cosas a Dios todopoderoso por brindarme la familia tan especial y la oportunidad de iniciar y terminar esta hermosa carrera donde la vida y la naturaleza muestran todo su esplendor.

A mis Padres Gustavo y Rubiela por todos los años de cariño, consejos y dedicación brindada.

A la Doctora Marta Marina Bolaños del C.I Tibaitata CORPOICA por brindarme la oportunidad de participar en su equipo de trabajo y asesorarme de forma integral en el desarrollo de este proyecto.

A la Universidad del Valle por brindar un escenario de aprendizaje, discusión y formación académica.

Al Doctor Enrique Bravo de la Universidad del Valle por asesorarme y apoyarme en el proceso de aprendizaje y en el enfoque investigativo de esta tesis

A los doctores Jairo García y Angélica Sandoval, por su apoyo, asesoría y acompañamiento en el desarrollo del trabajo.

A Corpoica, Ministerio de Agricultura, por permitir la integración de estudiantes al desarrollo de las investigaciones y del agro del país.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	VII
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABLAS.....	XI
LISTA DE ANEXOS	XIII
RESUMEN	XIV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 El suelo.....	4
2.2 Actividad biológica del suelo.....	4
2.3 Las Enzimas	5
2.4 Enzimas del suelo.....	6
2.4.1 Factores que afectan la actividad enzimática del suelo.....	8
2.4.2 Criterios para la estimación de actividad enzimática en laboratorio	13
2.4.3 Características de algunas enzimas del suelo.....	15
2.5 RIDOMIL [®] GOLD MZ 68 WP	17
2.6 RHODAX [®] 70 WP	18
2.7 ENMIENDAS ORGÁNICAS	20
3. HIPÓTESIS.....	22
4. OBJETIVOS.....	23
5. METODOLOGÍA	24
5.1 EXPERIMENTO 1: PRUEBA In Vitro. Bajo Condiciones de laboratorio	24
5.1.1 Suelo	24
5.1.2 Aplicación de productos químicos y bagazo de caña	24
5.1.3 Toma de muestras de suelo	25
5.1.4 Diseño experimental	25
5.1.5 Métodos de laboratorio.....	26
5.1.5.1 Determinación enzimática: Fosfatasa ácida y alcalina	26
5.1.5.2 Actividad deshidrogenasa	27
5.1.5.3 Actividad microbiana estimada como C-CO ₂ -Respiración.....	31
5.1.5.4 Recuento de microorganismos del suelo.....	32
5.1.6 Análisis estadísticos.....	33

5.2	EXPERIMENTO 2: CONDICIONES DE CAMPO	34
5.2.1	Localización	34
5.2.2	Análisis físico y químico del suelo	34
5.2.3	Selección de los árboles para el experimento	35
5.2.4	Aplicación de productos químicos y bagazo de caña	35
5.2.5	Diseño experimental	35
5.2.7	Métodos	37
5.2.8	Análisis estadísticos.....	38
6.	RESULTADOS	39
6.1	EXPERIMENTO EN CONDICIONES DE LABORATORIO	39
6.1.1	Propiedades químicas del suelo en estudio.....	39
6.2	EXPERIMENTO BAJO CONDICIONES DE CAMPO	51
6.2.1	Propiedades bioquímicas del suelo.....	51
6.2.1.1	Actividad enzimática de fosfatasa ácida.....	51
6.2.1.2	Actividad enzimática de Fosfatasa alcalina	52
6.2.1.3	Actividad enzimática de deshidrogenasas.....	54
6.2.2	Propiedades biológicas del suelo	55
6.2.2.1	Actividad microbiana (C-CO ₂).....	55
7.	DISCUSIÓN	57
	BIBLIOGRAFÍA	65
	ANEXOS	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fuente y estado de las enzimas en el suelo.	7
Figura 2. Efectos directos e indirectos causados por la aplicación de productos químicos sobre la actividad enzimática del suelo.....	11
Figura 3. Alteraciones de las funciones vitales de los microorganismos del suelo causadas por la aplicación de productos químicos.....	11
Figura 4. Proceso químico para la determinación de fosfatasa en suelo.....	26
Figura 5. Proceso químico para la determinación de deshidrogenasa en el suelo.....	27
Figura 6. Flujograma para la estimación de actividad de fosfatasa.....	30
Figura 7. Flujograma para la estimación de la actividad deshidrogenasa.....	31
Figura 8. Localización del experimento en campo, Mariquita. Tolima.	34
Figura 9. Actividad fosfatasa ácida en suelo tratado con diferentes fungicidas y bagazo de caña durante 90 días de incubación.	42
Figura 10. Actividad fosfatasa alcalina en suelo tratado con diferentes fungicidas y bagazo de caña durante 90 días de incubación	44
Figura 11. Actividad deshidrogenasa en suelos tratados con diferentes fungicidas y bagazo de caña durante 90 días de incubación.	45
Figura 12. Actividad fosfatasa ácida en suelos tratados con diferentes fungicidas y bagazo de caña en condiciones experimentales de campo	52
Figura 13. Actividad deshidrogenasa en suelos tratados con diferentes fungicidas y bagazo de caña en condiciones experimentales de campo	54
Figura 14. Respiración basal en suelos tratados con diferentes fungicidas y bagazo de caña en condiciones experimentales de campo.	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Diferentes especies de hongos fitopatógenos controlados por <i>Trichoderma</i> spp.	20
Tabla 2. Periodo de aplicación de fungicidas y bagazo de caña y muestreo de suelo por cada tratamiento	37
Tabla 3. Propiedades químicas y físicas del suelo en estudio, proveniente de la finca El Triunfo, municipio de Mariquita.....	39
Tabla 4. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad fosfatasa ácida en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.....	42
Tabla 5. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad fosfatasa alcalina en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.....	44
Tabla 6. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad enzimática deshidrogenasas en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.....	46
Tabla 7. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la respiración del suelo en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.....	47
Tabla 8. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña	48
Tabla 9. Correlación entre actividades enzimáticas y actividad biológica en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.....	50
Tabla 10. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad fosfatasa acida en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.....	52
Tabla 11. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad enzimatica fosfatasa alcalina en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.....	53
Tabla 12. Prueba de comparación de medias para actividad de deshidrogenasa en los momentos de muestreo	55

Tabla 13. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la respiración basal del suelo en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con productos químicos y enmiendas orgánicas	56
--	----

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Modelos de regresión para fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina y deshidrogenasas en función del tiempo para cada uno de los tratamientos evaluados.....	73
Anexo 2. Análisis de varianza de la actividad de las enzimas deshidrogenasa, fosfatasa ácida y alcalina a los 8, 15, 45 y 90 días después de aplicar los productos.....	74
Anexo 3. Análisis de varianza de la actividad de las enzimas deshidrogenasa, fosfatasa ácida y alcalina a los 15 y 360 días después de aplicar los productos, en condiciones experimentales de campo	98

RESUMEN

En este trabajo se estudió el efecto de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña sobre la actividad biológica y bioquímica del suelo; tanto en condiciones de laboratorio como de campo, donde se establecieron los mismos tratamientos. La fase inicial se desarrolló en el laboratorio de microbiología del centro de investigación Nataima-CORPOICA y la fase de campo se desarrolló en la finca “El Triunfo” del municipio de Mariquita-Tolima, en un cultivo de aguacate (*Persea americana*) variedad Lorena, con 8 años de establecido, en fase de producción y que presenta síntomas de pudrición radical.

Se evaluaron los siguientes tratamientos: 1) Mefenoxam 4g/litro; 2) Mefenoxam 8g/litro; 3) Fosetyl-Al 4g/litro; 4) Fosetyl-Al 8g/litro; 5) Bagazo de caña 15 kg/planta; 6) Bagazo de caña 15 kg/planta + *Trichoderma* spp (5g/L) y 7) Testigo (sin ningún producto). Las variables respuesta fueron la actividad enzimática (fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa) y como parámetro microbiano se determinó la respiración basal del suelo y el conteo de unidades formadoras de colonias de hongos (UFC).

En condiciones experimentales de laboratorio, se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos establecidos ($P \leq 0.05$). Los suelos tratados con Mefenoxam y Fosetyl-Al, presentaron la menor actividad enzimática de fosfatasas y deshidrogenasas, mientras que en los suelos tratados con bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma*, se presentó una mayor actividad de las enzimas.

Bajo las mismas condiciones experimentales, se presentó un aumento de la respiración basal del suelo y en el conteo de hongos, en los suelos tratados con el bagazo de caña. Mientras que estas mismas variables, disminuyeron con la aplicación de los fungicidas.

En condiciones experimentales de campo, no se presentó un efecto claro de los fungicidas y el bagazo de caña sobre las actividades fosfatasas del suelo.

Por otra parte la actividad deshidrogenasa se vió influenciada positivamente por la enmienda orgánica, presentando un aumento durante el periodo experimental.

En general, la aplicación de coberturas vegetales como el bagazo de caña, estimula el desarrollo microbiano, llevando a un aumento en la respiración basal y de la actividad enzimática del suelo.

Palabras clave: actividad enzimática, biomasa microbiana, Mefenoxam, Fosetyl-Al, bagazo de caña. *Trichoderma* spp

ABSTRACT

In this work was studied the effect of applying chemicals and organic amendments on biological and biochemical activity of soil under laboratory and field conditions, were established equal treatment for both conditions. The initial phase was developed in the microbiology laboratory located at the research center Nataima (CORPOICA) and the field phase on the farm "El Triunfo" (Mariquita, Tolima), in an avocado (*Persea americana*) crop growing Lorena, with 8 years old, in production stage and root rot symptoms.

The following treatments were evaluated: 1) Mefenoxam 4g/l, 2) Mefenoxam 8g/l, 3) Fosetyl-Al 4g/l, 4) Fosetyl-Al 8g/l, 5) cane bagasse 15 kg plant; 6) 15 kg bagasse/plant + *Trichoderma* spp (5g/l) and 7) Control (no product). The response variables were the enzymatic activity (acid phosphatase, alkaline phosphatase and dehydrogenase), and as microbial parameter was determined the basal soil respiration and counting colony forming units of fungus (CFU). In experimental laboratory conditions, there were statistically significant differences between the treatments ($P \leq .05$). Mefenoxam and fosetyl-Al treated soils, had the lowest enzymatic activity of phosphatases and dehydrogenases, while in soils treated with bagasse, supplemented or not with *Trichoderma*, it had a higher activity of enzymes.

Under the same experimental conditions, there was an increase in basal soil respiration and the CFU of fungi in soils treated with bagasse. While these variables, decreased with the application of fungicides. In field experimental conditions, did not show a clear effect of fungicides and organic amendments on soil phosphatase activities. Moreover dehydrogenase activity was influenced positively by the organic amendment, showing an increase during the experimental period.

In general, the application of organic amendments as bagasse, stimulates microbial growth, leading to an increase in the basal respiration and soil enzyme activities.

Keywords: enzyme activity, microbial biomass, Mefenoxam, fosetyl-Al, bagasse, *Trichoderma* sp

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo del aguacate (*Persea americana* Mill) tiene importancia a nivel mundial. México es el principal productor seguido por Indonesia, Estados Unidos, Chile y Colombia. En Colombia la producción ha aumentado en los últimos años al pasar de 170.985 tm en el 2004 a 183.968 toneladas métricas en el 2008 (SIIM, 2010), sin embargo, los rendimientos solo crecieron 2% anual, debido principalmente a problemas fitosanitarios y de manejo del cultivo.

En el cultivo de aguacate (*Persea americana*, Mill) la enfermedad más importante es la pudrición de raíz causada por el hongo *Phytophthora* sp., aunque se han identificado otros agentes causales de la enfermedad como: *Verticillium* sp., *Armillaria mellea*, *Rosellina* sp., *Cylindrocladium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. (Tamayo, 2008). Son varias las especies de *Phytophthora* (*P. citrícola*, *P. cactorum*, *P. parasítica*, *P. palmivora*, *P. heveae*) que afectan el aguacate en diferentes regiones del mundo, sin embargo, en Colombia solo la especie *P. cinnamomi* ha sido claramente establecida como la causante de la pudrición de raíces (Tamayo, 2008). Los árboles afectados muestran amarillamiento y caída de las hojas, marchitez y finalmente la muerte del árbol en unas pocas semanas después de la aparición de los primeros síntomas foliares (Pliego *et al.*, 2007).

Una de las dificultades en el manejo de *P. cinnamomi* es que puede sobrevivir en el suelo como zoospora por muchos años o como micelio en plantas en descomposición, adicional a esto, las zoosporas pueden ser dispersadas fácilmente por la lluvia o por sistemas de riego (Pliego *et al.*, 2007).

El manejo de fitopatógenos incluye prácticas culturales (solarización del suelo), uso de variedades resistentes y aplicación de fungicidas. La aplicación de productos de síntesis química en el control de enfermedades ha sido una práctica común en la producción agrícola en muchas partes del mundo. Para el control de *Phytophthora* en cultivo de aguacate en Colombia se utilizan frecuentemente fungicidas como Ridomil (D-Alanino, N - (2,6- dimetilfenil)-N-

(metoxi-acetil) metil éster y Mancozeb (Complejo de una sal de Zinc y etilén bis polímero de Manganeso) y Rhodax (Fosetyl aluminio + Mancozeb), que tienen acción tanto sistémica como de contacto (Ozturk 2008).

Los fungicidas han sido diseñados para suprimir el metabolismo bioquímico y fisiológico de hongos fitopatógenos blanco, sin embargo, estos también tienen el potencial para erradicar o influenciar el número y funciones de un amplio rango de organismos del suelo no blanco, reduciendo la diversidad microbiana y posiblemente disminuyendo la fertilidad del suelo (Núñez *et al.* 2011), dado a que los microorganismos son responsables de innumerables procesos bioquímicos que ocurren a través de la síntesis enzimática (intracelulares y extracelulares) relacionados con el ciclado de nutrientes, la mineralización, descomposición de la materia orgánica y xenobióticos. Adicionalmente se ha reportado que algún cambio en el manejo y uso del suelo se refleja en la actividad enzimática, la cual puede anticipar cambios en la calidad del suelo antes de que sean detectados por otro tipo de análisis (Acosta *et al.* 2007).

Teniendo en cuenta la problemática ambiental generada por el uso excesivo de productos químicos, se han diseñado prácticas de manejo integrado de plagas y enfermedades con el uso de microorganismos antagonistas como *Trichoderma* spp., inoculación de micorrizas para la mejora de la nutrición vegetal y el uso de enmiendas orgánicas (compost, mulch, entre otras). Estas últimas promueven la mayor densidad y actividad de las poblaciones microbianas del suelo, debido a la liberación prolongada de nitratos, nitritos, sulfatos, fosfatos, vapor de agua, oxígeno y constituyentes orgánicos que son rápidamente consumidos por la microflora edáfica (Bolaños 2006). Una flora microbiana enriquecida en la rizósfera puede afectar negativamente el desarrollo de patógenos del suelo, debido a la competencia por alimento y los sitios de colonización.

Por lo tanto el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña empleados para el control de *Phytophthora cinnamomi*, sobre la actividad biológica y bioquímica del suelo cultivado con

aguacate, variedad Lorena, en una finca productora del municipio de Mariquita-Tolima.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 El suelo

El suelo es un sistema altamente complejo caracterizado por una variedad de procesos biológicos, químicos y físicos, que están fuertemente influenciados por los factores ambientales (Ceron & Melgarejo, 2005). El suelo está formado por cinco componentes principales: la sustancia mineral, la sustancia orgánica, el aire, el agua y los organismos vivos. La cantidad de cada uno de estos constituyentes varía entre los suelos, dependiendo de las características del material parental, así como de los procesos edáficos que hayan tenido lugar en su formación (Verdu, 1984). La fracción mineral constituye, en general cerca de la mitad del volumen del suelo y tiene su origen en la desintegración y descomposición de las rocas y la mineralización de la materia orgánica. La sustancia orgánica representa de un 3-6% del volumen total y procede de la actividad de los distintos organismos vivos. La porción correspondiente a los organismos vivos comprende alrededor del 1% del volumen total. El resto del volumen del suelo está prácticamente constituido por los espacios porosos que a su vez están ocupados por agua y los gases que constituyen la atmósfera edáfica. La porosidad (cantidad y tamaño de los poros) depende de la textura, determinada por la cantidad de arena, limo y arcilla; la estructura y el contenido en materia orgánica (Nogales, 2005).

2.2 Actividad biológica del suelo

El suelo es un conjunto orgánico-mineral y como tal, su formación y propiedades dependen en gran medida de los procesos biológicos y de la influencia de estos. Los principales roles del suelo en los ecosistemas se agrupan en: soporte mecánico, provisión de hábitat, almacenamiento de la

materia orgánica, liberación de elementos y almacenamiento del agua (Lavelle & Spain, 2003).

La fracción del suelo que presenta la mayor actividad microbiana es conocido como “suelo rizosférico” y se define como el volumen de suelo afectado por la presencia de las raíces; en esta zona las concentraciones de microorganismos pueden estar entre 10^{10} y 10^{12} por gramo de suelo, principalmente por la deposición de carbono (Pinto *et al.*, 2007).

En el suelo se encuentran cinco grupos importantes de microorganismos: bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoos; que presentan un amplio rango de funciones involucradas con el ciclado de nutrientes, descomposición de la materia orgánica y de xenobióticos (Acosta *et al.*, 2008). Por tal razón los microorganismos han sido empleados como indicadores de la calidad de los suelos. Diferentes investigaciones han reportado el efecto de metales pesados, prácticas de manejo agrícola, tasas de aplicación de productos químicos sobre la actividad microbiana, afectando el ciclado de nutrientes y la actividad bioquímica del suelo, ya que los microorganismos son la principal fuente de enzimas (Acosta *et al.*, 2007).

2.3 Las Enzimas

Las enzimas son moléculas de gran interés que determinan la pauta de las transformaciones químicas, también intervienen en la transformación de un tipo de energía a otro. Las características más sobresalientes de las enzimas son su poder catalítico y especificidad tanto en la reacción que catalizan, como en la selección de las sustancias reaccionantes denominadas sustrato. La catálisis tiene lugar en un centro específico de la enzima llamada centro activo. La actividad catalítica de muchas enzimas depende de la presencia de pequeñas moléculas llamadas cofactores, estos se dividen en dos grupos: metales y moléculas orgánicas pequeñas (coenzimas) (Stryer *et al.*, 2008).

La mayor parte de las enzimas tienen nombres comunes que proporcionan poca información acerca de las reacciones que catalizan, con base a esto la IUB (International Union of Biochemistry) estableció un sistema de clasificación donde las reacciones se dividieron en seis clases principales numeradas del 1 al 6 (Stryer *et al.*, 2008).

1. Oxidorreductasas: funciones de oxidación-reducción
2. Transferasas: Transferencia de grupo
3. Hidrolasas: Reacciones de hidrólisis (transferencia de grupos funcionales al agua)
4. Liasas: Adición o separación de grupos para formar dobles enlaces
5. Isomerasas: Isomerización (transferencia intramolecular de grupo)
6. Ligasas: Unión de dos sustratos a expensas de la hidrólisis de ATP

2.4 Enzimas del suelo

Muchas de las transformaciones biológicas que tienen lugar en el suelo, son catalizadas por enzimas producidas por los microorganismos. Los organismos y las plantas liberan enzimas al suelo por secreción y por lisis celular después de su muerte; un bajo porcentaje de estas proteínas quedan inmovilizadas y estabilizadas en interacción con los diferentes componentes de la fase sólida del suelo, como las arcillas, moléculas orgánicas y complejos órgano-minerales (Joinville *et al.*, 2004 citado por Ceron & Melgarejo, 2005).

Las enzimas del suelo más estudiadas son las oxidorreductasas (en particular deshidrogenasas, catalasas y peroxidasas) y las hidrolasas (fosfatasas, proteasas y ureasa). Una parte de las enzimas del suelo son extracelulares, siendo liberadas durante el metabolismo y muerte celular, aunque por lo regular, su vida media como enzimas libres es muy corta; otras son intracelulares, formando parte de la biomasa microbiana (García & Gil, 2003).

Las enzimas del suelo ofrecen información sobre la capacidad potencial del suelo para llevar a cabo reacciones específicas, las cuales son importantes en el ciclo de nutrientes, principalmente las hidrolasas implicadas en los ciclos del carbono (C), Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Azufre (S) (García & Gil, 2003). La actividad enzimática oxidorreductasa, como la deshidrogenasa, se ha empleado como indicador de calidad microbiana del suelo, ya que la síntesis de ésta se da intracelularmente.

Las enzimas proceden de células proliferantes, latentes, o restos de ellas. La mayor producción de enzimas extracelulares se le atribuye a microorganismos por su gran biomasa, su alta actividad metabólica y su corto ciclo de vida, en contraste con otros organismos que también las pueden liberar como las plantas y los animales (Ceron & Melgarejo, 2005). Una gran parte de las enzimas que se liberan en el suelo pueden ser rápidamente metabolizadas por los microorganismos, mientras que la mayoría puede ser rápidamente adsorbida por parte de la arcilla. Generalmente la adsorción por parte de las arcillas puede ocurrir en un amplio intervalo de pH (Verdu, 1984).

Las fuentes y estado de las enzimas en el suelo se resumen en la figura 1.

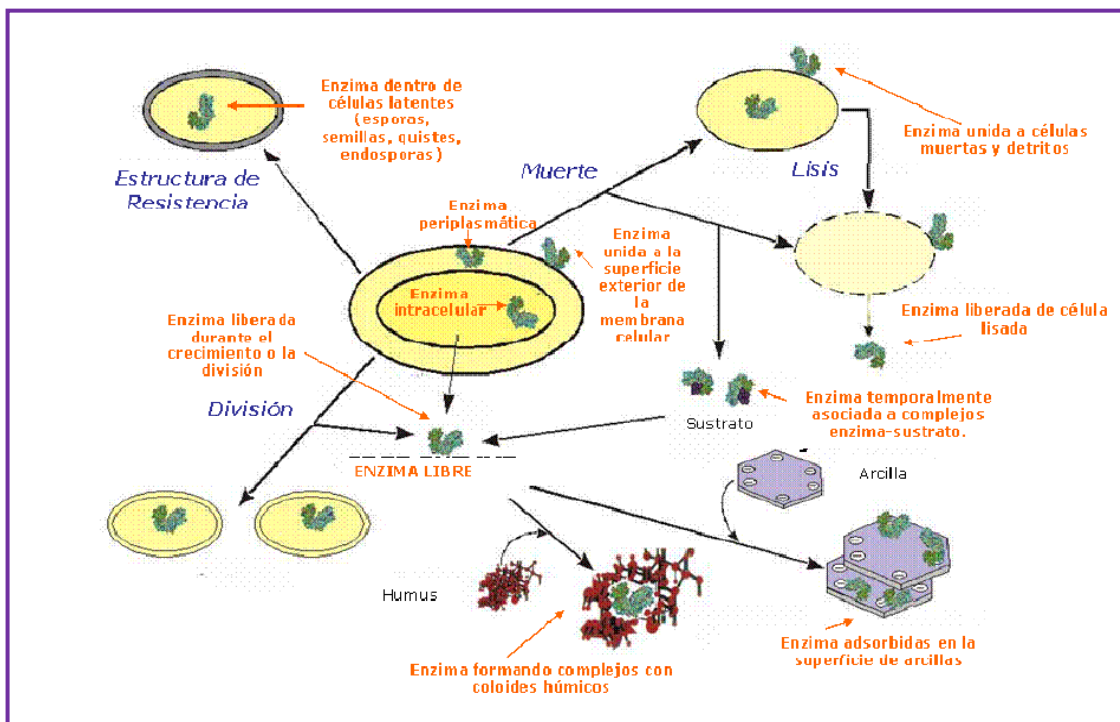


Figura 1. Fuente y estado de las enzimas en el suelo. Tomado de Ochoa *et al.*, 2007.

2.4.1 Factores que afectan la actividad enzimática del suelo

Efecto de las prácticas de manejo del suelo en la actividad enzimática

Diferentes parámetros como contenido de carbono, nitrógeno, fósforo, pH, textura, biomasa, contenido de ATP, actividad enzimática, caracterización fisiológica y estructura de la comunidad microbiana, han sido monitoreados para evaluar el efecto de las prácticas de manejo en la calidad del suelo; de todos estos, la actividad enzimática ha resultado ser el indicador más relevante, ya que asocia dos componentes importantes, como son las propiedades físicas y químicas del suelo y la actividad microbiana.

Prácticas de manejo, como la rotación de cultivos, aplicación de coberturas, labranza, aplicación de fertilizantes, herbicidas y fungicidas pueden tener diversos efectos en la actividad enzimática y microbiana del suelo, alterando procesos tan importantes como la mineralización del nitrógeno y por tanto, la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Salazar, 2011).

De acuerdo a Acosta *et al.* (2008) la actividad de las fosfatasas estuvieron significativamente correlacionadas (r) con el carbono orgánico de muestras de suelo evaluadas, con valores de 0,71 para fosfodiesterasas a 0,92 para fosfatasa ácida, sugiriendo que la materia orgánica juega un rol importante en la protección y mantenimiento de las enzimas del suelo en sus formas activas.

Las fosfatasas ácidas y alcalinas están relacionadas con el pH del suelo, se ha demostrado que la fosfatasa ácida es predominante en suelos ácidos y que la fosfatasa alcalina predomina en suelos alcalinos (Tejada *et al.*, 2011).

Efecto de enmiendas orgánicas

La adición de residuos orgánicos puede estimular la actividad enzimática como resultado de la proliferación microbiana o inducción de las enzimas en respuesta a la enmienda, si sustancias inhibitorias no están presentes en los residuos orgánicos, tales como metales pesados (Nannipieri & Greco, 1990).

Las enmiendas orgánicas pueden ser aplicadas en el suelo en diferentes formas, como la de mulch, que puede reducir la evaporación del agua de la superficie del suelo, suprimir el crecimiento de arvenses, mejorar el crecimiento radical, favorecer el consumo de nutrientes por las plantas y actuar como agente de biocontrol. Estas condiciones favorecen el desarrollo microbiano, que son la principal fuente de enzimas en el suelo.

Mulch aplicados a árboles de aguacate presentaron un efecto positivo para el control del *Phytophthora*. Esto se atribuye a que la materia orgánica está compuesta principalmente de celulosa, el mismo componente de la pared celular del fitopatógeno y que es una fuente importante de carbono para los microorganismos del suelo, que lo obtienen a través de la síntesis de las enzimas celulasas (Nannipieri & Greco, 1990).

Efecto de la labranza

Los cambios en las poblaciones microbianas, causados por las prácticas de manejo de los suelos, pueden ser reflejados en los diferentes comportamientos de las actividades enzimáticas (Deng y Tabatabai 1997), teniendo en cuenta que los microorganismos son la principal fuente de enzimas en el suelo (Acosta *et al.*, 2007).

Se ha reportado efectos importantes de los métodos de labranza en la actividad enzimática y microbiana de los suelos. Deng y Tabatabai (1997), reportaron que suelos manejados con la labranza en vertedero presentaron menos actividad enzimática, comparado con sistemas sin labranza y los métodos de labranza mínima en cincel. Estos resultados concluyeron que la labranza mínima no solo reduce la erosión del suelo sino que también promueve el almacenamiento del agua y nutrientes. De igual manera se incrementó la actividad fosfatasa y arilsulfatasa en sistemas sin labranza y con labranza mínima, incrementando de esta forma el ciclado de P y S.

Efecto de compuestos químicos

La influencia de los productos residuales en la actividad enzimática del suelo depende de numerosos factores como: la naturaleza y la dosis del compuesto, el tipo de suelo, el tipo de enzimas, entre otros y pueden observarse tres condiciones:

1. La actividad enzimática aumenta después del tratamiento: el fenómeno se puede dar cuando el producto sea utilizado por alguna clase de microorganismos y la proliferación microbiana conduzca a un aumento de la actividad enzimática extracelular (Verdu, 1984).

2. La actividad enzimática permanece inalterada: Se trata generalmente de actividades enzimáticas no implicadas en la transformación, ni inhibidas por el producto residual o bien no presentes en el suelo en estado extracelular (Verdu, 1984)

3. La actividad enzimática viene reducida o anulada por el tratamiento: se trata de la situación que puede conducir a consecuencias agronómicas graves: el producto residual es un fuerte inhibidor enzimático (Verdu, 1984)

Una de estas situaciones se puede presentar debido a los efectos directos o indirectos que los productos químicos pueden generar (figura 2). Efecto directo: cada vez que una enzima es inhibida, se debe al hecho de que un sitio activo de la misma se enlaza con el inhibidor y, esto se debe tanto a la estructura molecular del inhibidor como a su capacidad de reaccionar con el sitio específico. Efecto indirecto: Son aquellos que inciden sobre los microorganismos los cuales a su vez contribuyen al acumulo de la actividad enzimática. Los químicos por tanto pueden explicar su acción sobre las enzimas alterando las funciones vitales de los microorganismos, modificando la permeabilidad de las membranas celulares o interfiriendo la regulación enzimática de la biosíntesis proteica (Figura 3).

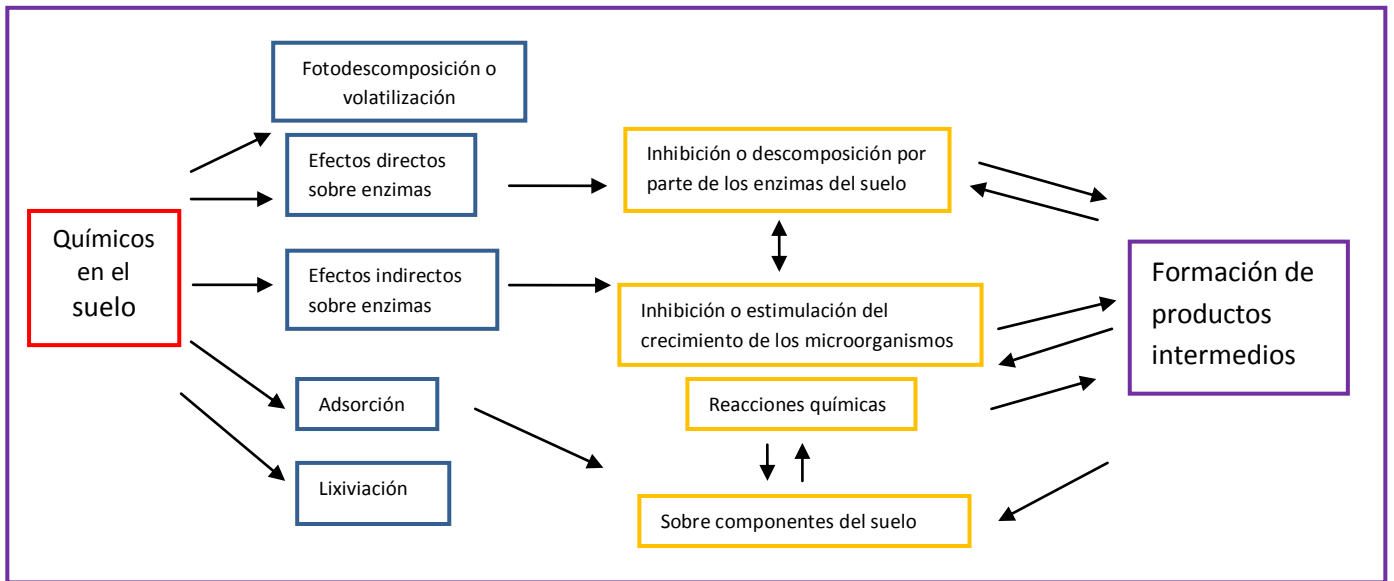


Figura 2. Efectos directos e indirectos causados por la aplicación de productos químicos sobre la actividad enzimática del suelo. Tomado de Verdu (1984).

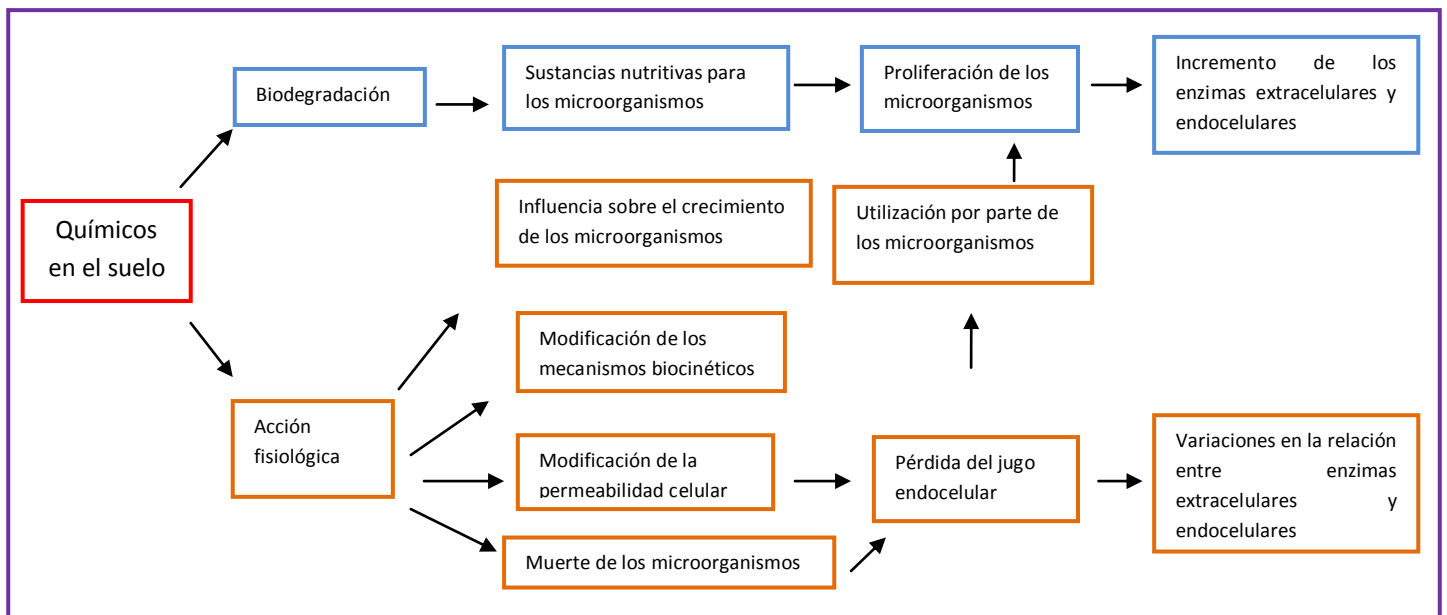


Figura 3. Alteraciones de las funciones vitales de los microorganismos del suelo causadas por la aplicación de productos químicos.

El impacto de los fungicidas en las poblaciones microbianas del suelo y la actividad enzimática está modulado por las propiedades físicas y químicas, que a su vez son afectadas por la biodisponibilidad y transporte, la composición de poblaciones microbianas (presencia de especies que degradan o que son tolerantes al fungicida) y la vegetación presente.

Monkiedje y Spiteller (2001) citados por Tejada *et al.* (2011) observaron un efecto estimulante en la actividad fosfatasa del suelo después de la aplicación de metalaxyl y prochloraz al suelo; esto puede deberse a que los fungicidas son usados como fuente de energía por los microorganismos. Resultados similares son reportados por Tejada *et al.* (2011), donde a través de técnicas moleculares para evaluar la diversidad microbiana, se encontró que el fungicida Prochloraz no afecta negativamente la biodiversidad de bacterias del suelo, analizada a diferentes dosis del producto.

Por el contrario, Monkiedje *et al.* (2002) expresan que la aplicación de mfenoxan y metalaxyl tiene un efecto inhibitorio en la actividad deshidrogenasa del suelo, al comparar suelos tratados con diferentes concentraciones de los productos y el control (suelo no tratado). Resultados similares se encontraron para la actividad enzimática β -glucosidasa y fosfatasa alcalina. En cuanto a la diversidad microbiana, se observó un decrecimiento de las bacterias fijadoras de nitrógeno.

Sistemas de cultivo

Los sistemas de cultivos, bien sea producción de hortalizas, frutales y pasturas, presentan un efecto en las poblaciones microbianas del suelo, alterando de esta forma su función ecosistémica. Diversas publicaciones han demostrado que los microorganismos de la rizósfera varían de acuerdo a los exudados radicales producidos por las plantas.

Acosta *et al.*, (2008) reportaron altas cantidades de ácidos grasos extraídos de pasturas comparado con suelos bajo producción de hortalizas, teniendo en cuenta que los perfiles de ácidos grasos derivan de los componentes fosfolipídicos de las membranas celulares de los microorganismos y son empleados como indicadores de grupos microbianos del suelo (hongos, bacterias, actinomicetos).

Adicionalmente, la actividad enzimática de β -glucosaminidasa fue de 3 a 5 veces mayor en todos los suelos bajo pastura, comparados con suelo en producción de hortalizas; la actividad arilsulfatasa y fosfatasa tienen una tendencia similar, siendo mayor la actividad en suelos con pasturas.

En cuanto a las propiedades químicas y biológicas del suelo, se encontró que los sistemas de producción de hortalizas presentaron bajo contenido de carbono orgánico y baja biomasa microbiana, corroborando que esta última es controlada en cierto grado por la entrada de C en el suelo (Acosta *et al.*, 2008).

2.4.2 Criterios para la estimación de actividad enzimática en laboratorio

Para poder medir de manera correcta la actividad de una enzima del suelo, hay que tener en cuenta una serie de factores importantes tales como: sustrato y concentración, presencia o ausencia de tampón, la temperatura de incubación, la duración del ensayo, entre otros. A continuación se presentan algunos de los criterios para estimar la actividad enzimática en el laboratorio (García & Gil, 2003):

Concentración de sustrato: La cantidad de sustrato presente en el sistema de reacción es uno de los principales factores que determinan la actividad de la reacción enzimática. Un primer punto a tener en cuenta es que tanto la cantidad como la concentración de sustrato sean las adecuadas.

Temperatura de Incubación: En general, la velocidad de las reacciones catalizadas por las enzimas del suelo se incrementa con la temperatura, hasta

llegar a una determinada temperatura a la que la actividad enzimática disminuye debido a la desnaturalización de las proteínas enzimáticas, la cual parece que ocurre a una temperatura superior, que en el caso de las enzimas libres, se da a unos 10 a 15 °C por encima. En la mayoría de los métodos publicados se propone como temperatura de incubación de 37 °C, algunas de las razones son que a esta temperatura suceden muchas reacciones biológicas y es una temperatura suficiente para que la actividad pueda ser medida fácilmente y con una buena precisión.

Tiempo de Incubación: Normalmente la reacción enzimática se incrementa de manera lineal con el tiempo de incubación, hasta un determinado momento en el que se pierde la linealidad, lo que puede ocurrir tanto debido a que la cantidad de sustrato comienza a ser limitante como debido a una inhibición por los productos de la reacción enzimática, por lo que el tiempo de incubación que se recomienda para la determinación de la actividad de la mayoría de las enzimas oscila entre 1 y 3 h ó llegar hasta las 24 h como en el caso de la deshidrogenasa.

Cantidad de suelo: El peso de suelo empleado determina otros factores de gran relevancia para el ensayo de actividad como la disponibilidad de sustrato por unidad de peso del suelo.

Incubación con agitación o estática: Se ha comprobado para algunas enzimas que al realizar la incubación con agitación, la actividad media era mayor que al realizarla en condiciones estáticas, esto se debe a que las enzimas suelen estar adsorbidas sobre la superficie del suelo, la agitación incrementa la dispersión del suelo, por lo que mejora el contacto entre enzima y sustrato.

Conservación de las muestras: es uno de los puntos clave, se suele reconocer que para evitar que se produzcan variaciones en las actividades

enzimáticas, estas deberían de determinarse utilizando suelo húmedo y realizando las medidas lo más pronto posible después del muestreo.

2.4.3 Características de algunas enzimas del suelo

Fosfatasas

Las monoésterfosfato hidrolasas, especialmente las fitasas y las fosfomonoesterasas son las fosfatasas más estudiadas. Esto es debido a que un 60% del fósforo orgánico que ha sido identificado en el suelo corresponde a fosfatos de inositol.

La fosfatasa alcalina en suelos, se cree, deriva totalmente de microorganismos porque ésta no se ha encontrado en plantas superiores (Deng & Tabatabai 1997).

Básicamente, los métodos consisten en la incubación del suelo con un fosfato orgánico, estimando a continuación: 1) el producto de la reacción, esto es, la cantidad de P inorgánico liberado o 2) la molécula orgánica liberada por la hidrólisis, este último es más usado, ya que se utilizan sustratos normalmente artificiales, que liberan moléculas orgánicas coloreadas o que pueden ser coloreados mediante alguna reacción simple (β -naftilfosfato, fenilfosfato, p-nitrofenol fosfato), que se miden por espectrofotometría.

CaCl_2 es adicionado para detener la reacción y evitar el color café causado por la materia orgánica (Salazar *et al.* 2011). NaOH es utilizado para liberar el p-nitrofenol (Garcia & Gil, 2003). Para la determinación de fosfatasas se emplea el Buffer universal modificado con pH 6.5 (para la ácida) y pH 11 (para la alcalina).

Deshidrogenasas

La oxidación microbiana de sustancias orgánicas bajo condiciones aeróbicas está relacionada con la cadena de transferencia de electrones y el O₂ como aceptor final. El sistema de transferencia de electrones está acoplado con la síntesis de ATP, también llamada fosforilación oxidativa. NADH es la forma en que los electrones se recogen a partir de diferentes sustratos a través de la acción de deshidrogenasas vinculadas con el NAD (Alef & Nannipieri, 1995). En la ruta principal del transporte electrónico, desde los sustratos orgánicos hasta el oxígeno molecular, participan cuatro enzimas de oxido-reducción, entre las que se encuentran las deshidrogenasas.

El estudio de la actividad deshidrogenasa se considera un parámetro clave para determinar de una manera rápida los cambios que se producen en la fertilidad del suelo, y se ha empleado como un indicador del sistema redox microbiano, debido a que se suele considerar un buen exponente de las actividades oxidativas del suelo (Miras *et al.*, 2007).

La determinación de la actividad deshidrogenasa del suelo se basa en el uso de sales solubles de tetrazolio como aceptores artificiales de electrones. Este receptor final de electrones se reduce por la acción de las enzimas deshidrogenasas formando un precipitado insoluble en agua, rojo y soluble en solventes orgánicos (acetona) que se mide colorimétricamente (Salazar, 2011).

Celulasas

Las celulasas son un grupo de enzimas que catalizan la degradación de la celulosa. Es ampliamente aceptado que el sistema celulasas agrupa tres principales tipos de enzimas: 1) endo-1,4- β -glucanasa que ataca la cadena de celulosa al azar; 2) exo-1,4- β -glucanasa, que remueve glucosa o celobiosa desde el extremo no reductor de las cadenas de celulosa; y 3) β -D-glucosidasa, que hidroliza la celobiosa y otros celodextrinas solubles en agua a glucosa. Los productos de la degradación de la celulosa son glucosa, celobiosa y

oligosacáridos de alto peso molecular. La celulosa en los suelos es derivada principalmente de residuos vegetales incorporados dentro del suelo y una cantidad limitada es derivada de hongos y bacterias del suelo (Deng & Tabatabai, 1994).

2.5 MEFENOXAM (RIDOMIL[®] GOLD MZ 68 WP)

El mefenoxam (también llamado R-metalaxyl) metil N-(2-6-dimetilfenil)-N(Metoxiacetil)-D-alaninato es el enantiómero-R del metalaxyl y se ha producido desde 1996 bajo diferentes formulaciones y nombres, como Ridomil Gold, Fonganil gold, Apron XL y MAXX.

Ridomil es un fungicida fenilamida sistémico usado para el control de patógenos oomicetos (Paez *et al.* 2001). El principio activo, el mefenoxam, tiene acción unisitio donde inhibe la síntesis de ARN ribosomal por la incorporación de Uridina por parte de la ARN polimerasa (García *et al.* 2008). Este fungicida reduce el crecimiento micelial de *Phytophthora* sin afectar la germinación de esporangios y zoosporas (Paez *et al.* 2001).

Estudios han reportado el efecto de mefenoxan o sus componentes relacionados en la biología del suelo. El mefenoxam se ha demostrado que produce toxicidad aguda a concentración por encima de los 4500 ug g⁻¹ en poblaciones de bacterias y reduce la actividad deshidrogenasa (Monkiedje *et al.*, 2002).

La aplicación de metalaxyl, el cual pertenece a la misma clase de químicos, se ha encontrado que causa una ligera proliferación de actinomicetos y hongos, seguido de su desaparición en el suelo (Dvornikova *et al.*, 1988. tomado de: Demanou *et al.*, 2006)

2.6 FOSETYL-AL (RHODAX[®] 70 WP)

El Rhodax 70 WP (Fosetyl – Al 35% + Mancozeb 35 %) es un fungicida sistémico cuyo principio activo es el Fosetyl-Al, puede ser aplicado tanto foliar como edáfica ya que posee propiedades químicas que facilitan su movimiento en el xilema y floema (Ozturk, 2008). La molécula se rompe rápidamente en el suelo y en tejidos vegetales formando ácido fosfórico (H_3PO_3) y CO_2 , esto permite que en la planta se mueva basípeta o acropetamente, generando una rápida absorción. El mecanismo de acción para el control de oomicetos como *Phytophthora* se puede dar en dos vías: 1) Induce resistencia sistémica en la planta, donde involucra la acumulación de la fitoalexina Capsidol, que juega un rol importante en los mecanismos de defensa del hospedante. 2) Inhibe el crecimiento micelial y la esporulación del patógeno, ya sea por el Fosetyl-Al como por el ácido fosfórico producto del rompimiento de la molécula (Coffey & Joseph, 1985).

El impacto de esta molécula química en los microorganismos del suelo ha sido poco estudiado; Carrenho *et al.* (1998), encontraron que la aplicación de Fosetyl-Al reduce la diversidad y producción de esporas de micorrizas en el cultivo de cítricos, afectando la colonización de la raíz debido a los componentes de los exudados radicales que se producen; asociado a las raíces solo se encontró la especie *Glomus ramisporophora* la cual puede presentar afinidad por los compuestos producidos radicalmente, mientras que plantas tratadas con otras moléculas presentaron una mayor diversidad de micorrizas.

2.7 Enmiendas orgánicas

Las enmiendas orgánicas, tales como abonos verdes (incorporación de residuos de los cultivos en el suelo), residuos orgánicos y compost, ayudan a reducir la pérdida de agua en la superficie del suelo, suprimir el crecimiento de herbáceas, mejorar el crecimiento de las raíces y el consumo de nutrientes por las plantas (Benítez *et al.* 2000)

Las enmiendas orgánicas ayudan a disminuir la actividad de fitopatógenos del suelo, ya que son una fuente rica en carbono, lo que puede modificar la composición microbiana y la actividad enzimática del suelo; como resultado aumenta la competencia y/o antagonismo entre los microbios, (Baker and Cook, 1994 citado por Bonanomi *et al.*, 2013).

De acuerdo a Huang *et al.* (2006), al evaluar el efecto de las enmiendas orgánicas sobre *Verticillium* spp en cultivo de algodón, se encontró que hubo una disminución significativa en la sintomatología de la enfermedad; Esta disminución, se relacionó estadísticamente con el aumento del tamaño poblacional de hongos y actinomicetos.

Dentro del manejo integrado de plagas y enfermedades, la eficacia de las enmiendas orgánicas se puede potencializar con el uso de microorganismos benéficos como *Trichoderma* (Klein *et al.* 2011).

Trichoderma spp., es un hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. De este microorganismo existen más de 30 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras ramas. Se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, y se presenta en diferentes zonas y hábitat, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, así mismo en residuos de cultivos, especialmente en aquellos que son atacados por otros hongos (Villegas, 1999).

Modo de Acción: El modo de acción de *Trichoderma* spp., está asociado a la descomposición de la materia orgánica que hay en el suelo y por el antagonismo con microorganismos patógenos de plantas usando procesos de amensalismo, depredación, parasitismo, competencia e hiperparasitismo (Tabla 1) (Paez, 2006). *Trichoderma* spp., participa en la biotransformación de celulosa (polímeros de glucosa de alto peso molecular), en la transformación de hemicelulosa (polisacárido que por hidrólisis libera hexosa y pentosa), en la mineralización del nitrógeno (reacciones hidrolíticas) y de algunas proteínas presentes, en la degradación y en la descomposición de la lignina y el humus

que al tener estructuras basadas en núcleos aromáticos son degradados por oxidación de cadenas laterales. Estos procesos biológicos favorecen el crecimiento de la planta, le ofrecen un mayor vigor germinativo a las semillas, un mejor desarrollo de la raíz y una mejor expresión fenotípica (Cruz, 2007).

.Tabla 1. Diferentes especies de hongos fitopatógenos controlados por *Trichoderma* spp.

Fitopatógenos controlados por Trichoderma	Enfermedad	Cultivo
<i>Armillaria spp</i>	Pudrición de raíces.	Frutales
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Antracnosis	Papa, tomate, frijol, fresa, flores, tomate.
<i>Fusarium moniliforme</i>	Pudrición	Maíz
<i>Phytophthora infestans</i>	Gota	Papa, pepino de agua
<i>Phytophthora spp</i>	Pudrición	Tabaco, flores, frutales, etc.
<i>Pythium spp</i>	Pudrición algodonosa, volcamiento	Varios cultivos.
<i>Fusarium oxysporum</i>	Marchitamientos vasculares	Papa, tomate, frijol, plátano, maíz, clavel.
<i>Rhizoctonia solana</i>	Pudrición algodonosa, volcamiento	Zanahoria, tomate, lechuga, col, café, papa, cebolla, ajo, pimentón.
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Carbón de las raíces.	Maíz, frijol, melón, ajonjolí.
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Pudrición algodonosa, volcamiento	Habichuela, tomate, lechuga, col, café, papa, cebolla, ajo, pimentón.
<i>Rosellinia necatrix</i>	Pudrición blanca de raíces	Aguacate, manzano
<i>Botrytis cinérea</i>	Moho gris	Papa, tomate, frijol, fresa, flores, tomate.
<i>Cylindrocladium scoparium</i>	Volcamiento	Pino

Fuente: Páez, 2006

Mecanismos de antagonismo: Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos, ellos son: antibiosis, competencia por espacio o por nutrientes, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo, lisis enzimática), e inducción de resistencia.

Antibiosis: Es el fenómeno mediante el cual un hongo antagonista inhibe o destruye a un organismo a través de la producción metabólica de pequeñas moléculas tóxicas, volátiles las cuales actúan a concentraciones menores de 10 ppm (Vero, 2006; Porras, 2000) y de enzimas líticas las cuales disuelven o dañan polímeros estructurales como quitina y b- glucanasas de la pared celular de la mayoría de los hongos fitopatógenos, produciendo un efecto adverso sobre su desarrollo y diferenciación (Michel *et al.*, 2006).

Competencia: Se puede definir competencia como el desigual comportamiento de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás, generalmente se produce por nutrientes, oxígeno o espacio. (Porras, 2000).

Parasitismo: Consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente se ven implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, b-1,3 glucanasas y proteasas que lisan las paredes de las hifas, conidios o esclerotos (Porras, 2000).

Predación: En el caso de la predación el antagonista se alimenta de materia orgánica entre la cual ocasionalmente se encuentra el patógeno. No ha sido un mecanismo de acción muy importante en el desarrollo de agentes de biocontrol (Vero, 2006).

3. HIPÓTESIS

Hipótesis 1: La aplicación continua de fungicidas afecta no solo los microorganismos blanco, sino la población microbiana en general. Afectando procesos bioquímicos importantes como la actividad enzimática del suelo asociada al ciclaje de nutrientes. Por otra parte la aplicación de coberturas orgánicas vegetales como el bagazo de caña, estimula el desarrollo microbiano y los procesos bioquímicos asociados a ellos. Se espera que en suelos tratados con el bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* spp, presente una mayor actividad microbiana medida a través de la respiración basal del suelo, población microbiana (UFC) y actividad enzimática de fosfatasas y deshidrogenasas.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña sobre la actividad biológica y bioquímica del suelo cultivado con aguacate (*Persea americana*) en el municipio de Mariquita-Tolima.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar la actividad de deshidrogenasa, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina en rizósfera de aguacate tratada con diferentes fungicidas y bagazo de caña.
2. Determinar la actividad microbiológica a través de la respiración basal del suelo y población microbiana (UFC) de hongos, en la rizósfera de plantas de aguacate tratadas con diferentes fungicidas y bagazo de caña.
3. Establecer la relación existente entre la actividad enzimática y las características microbianas del suelo, en la rizósfera de plantas de aguacate tratadas con diferentes fungicidas y bagazo de caña.

5. METODOLOGÍA

5.1 EXPERIMENTO 1: PRUEBA *In Vitro*. Bajo Condiciones de laboratorio

5.1.1 Suelo

Se colectaron cerca de 50 kg de suelo a una profundidad de 20 cm, en la finca el Triunfo municipio de Mariquita-Tolima. El suelo fue trasladado al laboratorio de microbiología del centro de investigación Nataima-CORPOICA, y tamizado a través de un poro de 2 mm e inmediatamente usado para el experimento.

5.1.2 Aplicación de productos químicos y bagazo de caña

Los productos químicos y enmiendas orgánicas evaluadas en condiciones de laboratorio fueron:

T0: Control (Sin ningún producto)

T1: Ridomil Gold MZ 68 WP (Mefenoxam 4% + Mancozeb 64%), dosis 4 g/litro

T2: Ridomil Gold MZ 68 WP (Mefenoxam 4% + Mancozeb 64%), dosis de 8g/litro

T3: Rhodax 70 WP (Fosetil – Al 35% + Mancozeb 35 %) dosis de 4g/litro

T4: Rhodax 70 WP (Fosetil – Al 35% + Mancozeb 35 %) dosis de 8g/litro

T5: Cobertura vegetal de bagazo de caña (picado) 100 g

T6: Cobertura vegetal de bagazo de caña (picado) 100 g + *Trichoderma* spp (5g/L)

Para esto se emplearon recipientes plásticos, donde se colocaron 500 g de suelo previamente tamizado; fueron marcados de acuerdo a los productos químicos y/o enmienda orgánica a la que pertenecían. Se adicionó periódicamente agua destilada estéril. Las tarrinas fueron cubiertas e incubadas en la oscuridad a 27 °C durante 90 días, para evitar la fotodegradación de los fungicidas y la pérdida de agua del suelo.

5.1.3 Toma de muestras de suelo

Se tomaron muestras de suelos de cada una de las repeticiones experimentales a los 8, 15, 45 y 90 días después de aplicación de los tratamientos. El suelo fue conservado en bolsas plásticas y almacenadas en frío a -20 °C y procesadas en el menor tiempo posible.

5.1.4 Diseño experimental

Se estableció un diseño experimental completamente al azar con 7 tratamientos y 5 repeticiones. A continuación se plantea el modelo estadístico.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$$

$$j = 1, 2, 3, 4, 5$$

$$\varepsilon_{ij} \sim \text{NIND}(0, \sigma^2)$$

Dónde:

Y_{ij} : Variable respuesta (actividad enzimática, respiración del suelo y conteo de unidades formadoras de colonias) debido al i -ésimo nivel del tipo de productos químicos y enmiendas orgánicas, al j -ésimo nivel del tipo de repetición

μ : Media general sin considerar tratamientos

τ_i : Efecto debido al i -ésimo nivel del tipo de productos químicos y enmiendas orgánicas sobre las variables respuesta.

ε_{ijk} : Error experimental en el i -ésimo nivel del tipo de producto químico y enmienda orgánica, al j -ésimo nivel de repetición

Variables respuesta: se determinó la actividad enzimática de: Fosfatasa acida, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa; respiración del suelo y recuento de población microbiana (hongos).

5.1.5 Métodos de laboratorio

5.1.5.1 Determinación enzimática: Fosfatasa ácida y alcalina

Principio del Método: El método está basado en la determinación de *p*-nitrofenol liberado después de la incubación del suelo con *p*-nitrofenil fosfato sódico durante una hora a 37 °C (Figura 4). El *p*-nitrofenol (color amarillo) liberado es extraído con CaCl₂-NaOH además sirve para detener la actividad enzimática. Este cambio colorimétrico se estima mediante espectrofotometría a 400 nm (Alef & Nannipieri, 1995).

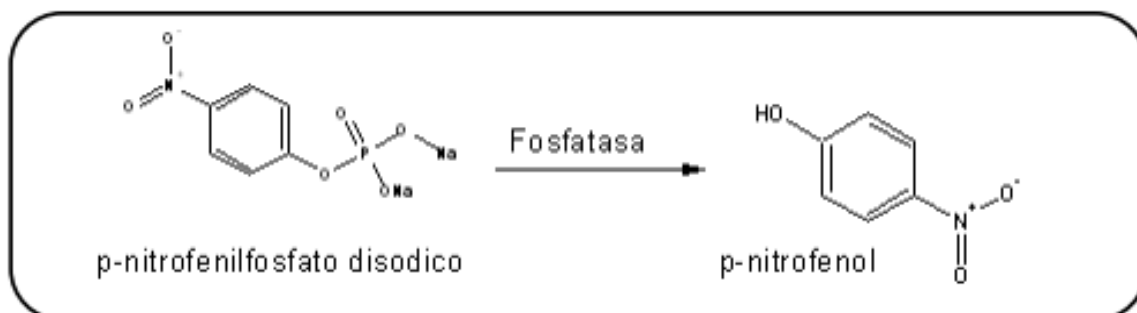


Figura 4. Proceso químico para la determinación de Fosfatasas en suelo

Con base en los valores de absorbancia obtenidos para cada una de las muestras y los respectivos controles y mediante la ecuación de la recta determinada previamente para la curva de calibración, se calcularon los $\mu\text{gPNP}\cdot\text{ml}^{-1}$ (figura 5). Posteriormente estos se introducen en la ecuación que se presenta a continuación, con el objetivo de calcular la actividad enzimática expresada como $\mu\text{gPNP}\cdot\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$. Tomado de Avellaneda (2008).

$$\mu\text{g PNP}\cdot\text{g}^{-1}\text{dm}^3\cdot\text{h}^{-1} = ((S-C)\cdot F\cdot V\cdot 100) / (W\cdot\%dm\cdot t)$$

Donde,

S= Valor promedio de las muestras ($\mu\text{g PNP}\cdot\text{ml}^{-1}$)

C= Control ($\mu\text{g PNP}\cdot\text{mL}^{-1}$)

V= Volumen del extracto en ml

W= peso inicial del suelo

100*% dm= Factor del peso seco del suelo= dwt o peso seco de 1g de suelo

t= Tiempo de incubación en horas

F= Factor de dilución

Este procedimiento se realizó con cuatro repeticiones. En la figura 6 se explica la metodología empleada para la estimación de la actividad enzimática de fosfatasas ácidas y alcalinas.

5.1.5.2. Actividad deshidrogenasa

Principio del Método: La determinación de la actividad deshidrogenasa del suelo se basa en el uso de sales solubles de tetrazolio. En este caso se empleará el 2, 3, 5- trifenil tetrazolium cloruro (TTC) como aceptor artificial de electrones, el cual se reduce a Trifenil formazan (TPF) por la acción de las enzimas deshidrogenasas presentes en la muestra de suelo, después de la incubación a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (Figura 5). El TPF formado es insoluble en agua, rojo y soluble en solventes orgánicos, por la tanto para la extracción se empleará acetona (Alef & Nannipieri, 1995).

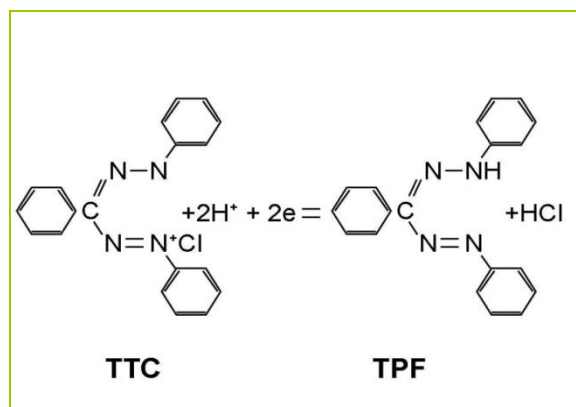


Figura 5. Proceso químico para la determinación de deshidrogenasas en el suelo.

Para estimar la actividad de deshidrogenasa se pesó un gramo de suelo con humedad de campo en un tubo de ensayo con 1 mL de solución de TTC (0,8g/100mL) en buffer tris 0.1 M (pH 7.8) se mezcló e incubó a 30 °C por 24 horas en la oscuridad. Por cada muestra se realizaron tres repeticiones. El control (blanco) contenía solo 1 ml del tris buffer (sin TTC).

Después de la incubación, el TPF (Trifenil formazan) formado se extrajo con 8 mL de acetona. Posteriormente, los tubos se agitaron e incubaron a temperatura ambiente por dos horas en la oscuridad (agitando los tubos en intervalos). Luego, las muestras se centrifugaron a 8000 r.p.m. a 4 °C por 10 minutos. La intensidad del color rojo o densidad óptica del sobrenadante (TPF) se estimó a 546 nm contra un blanco (sin sustrato) mediante el uso de espectrofotómetro. La concentración de TPF en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de suelo seco fue determinada mediante curva de calibración. Posteriormente, estos datos se introducen en la ecuación que se presenta a continuación, con el objetivo de calcular la actividad enzimática expresada en $\mu\text{gTPF}\cdot\text{g}\cdot\text{dm}$. Tomado de Bolaños (2006).

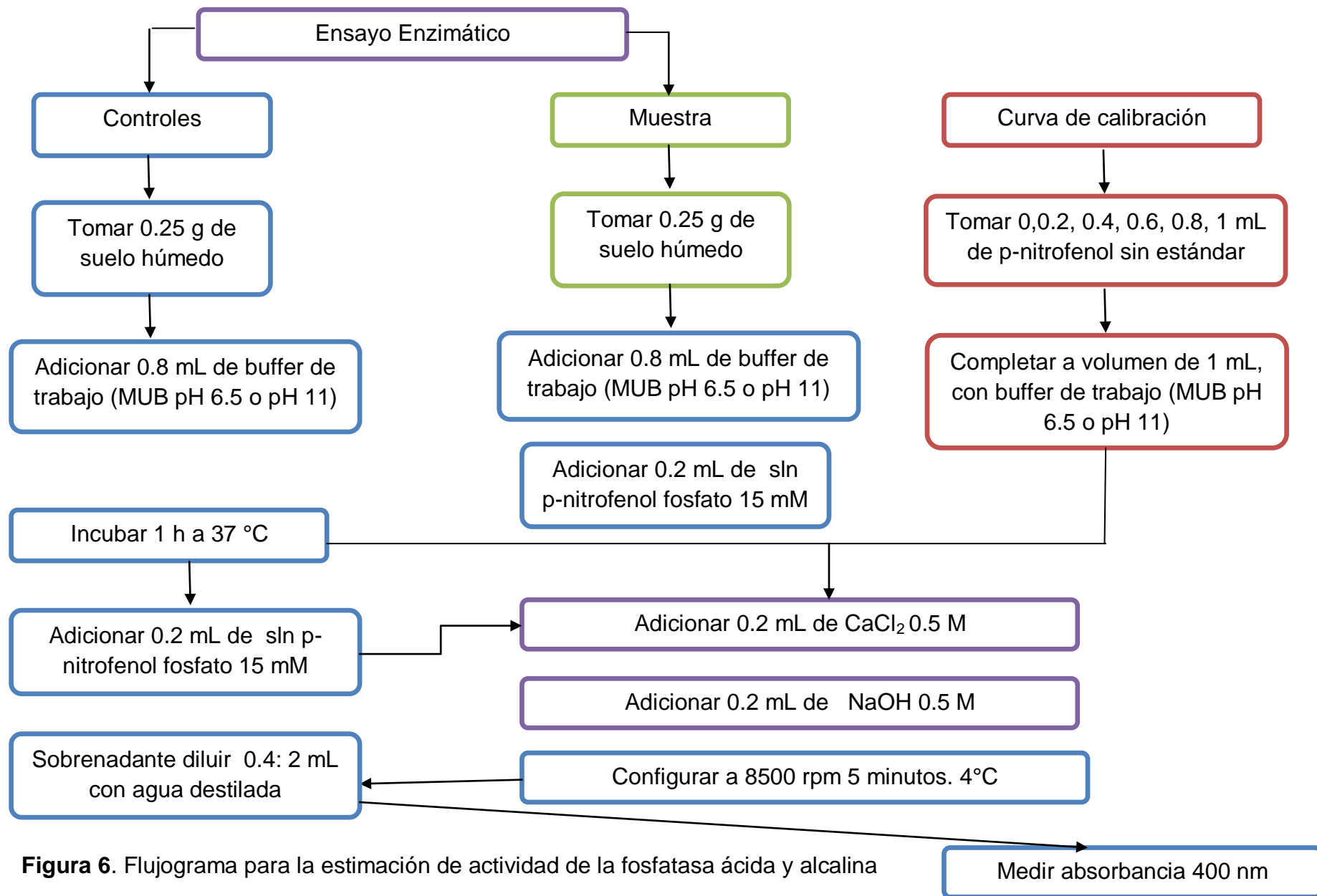
$$\mu\text{gTPF}\cdot\text{g}\cdot\text{dw} = \text{TPF} (\mu\text{g})/\text{ml}\cdot 9/\text{dw}\cdot 1$$

Donde,

dwt= peso seco de 1g de suelo húmedo

1=suelo húmedo (g)

9= es el volumen de reactivos adicionados a la muestra del suelo en el ensayo



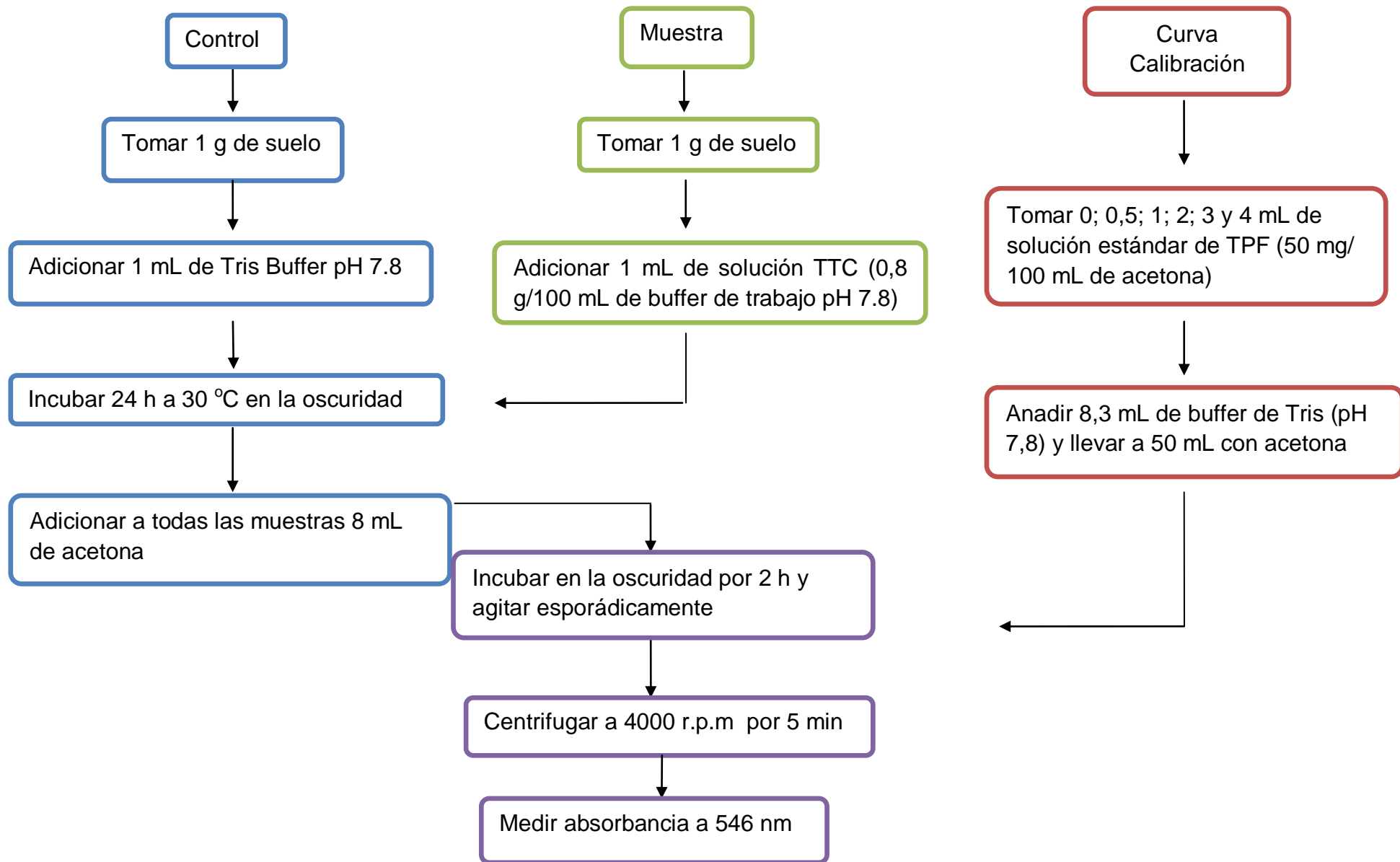


Figura 7. Flujograma para la estimación de actividad de deshidrogenasa.

5.1.5.3 Actividad microbiana estimada como C-CO₂-Respiración

La respiración microbiana se estimó mediante la metodología citada por (Alef & Nannipieri, 1995), con algunas modificaciones según Bolaños (2006).

Se introdujeron 50 g de suelo en un frasco con cierre hermético junto con un matraz con 10 ml de hidróxido de sodio (NaOH 1 N), que reacciona con el CO₂ producido por la respiración microbiana formando carbonato de sodio. Las muestras se incubaron a 29° C durante 4 días en la oscuridad. Un frasco sin suelo se utilizó como control.

Una vez finalizada la incubación, al frasco que contenía el NaOH se le adicionaron 10 mL de Cloruro de bario (BaCl₂) para precipitar el carbonato de sodio formado.

El exceso de NaOH tanto en muestras como en testigos, se tituló con ácido clorhídrico (HCl 0.5 N), empleando dos gotas de fenolftaleína como solución alcohólica indicadora. El viraje de color violeta a incoloro indica cambio de pH básico a ácido por la neutralización de todo el NaOH. Se realizaron tres repeticiones por muestra.

La estimación de la cantidad de CO₂ producido se expresa en mg C-CO₂ y se obtendrá con la fórmula siguiente:

$$AMS = \left[\frac{B - T}{P} \times NHCl \times 0.006 \right] \times 10^6 = \frac{mgC - CO_2}{gSueloSeco}$$

Donde:

AMS: Actividad Microbiana del suelo

B: Titulación en blanco o del testigo sin suelo

T: Titulación muestra de suelo

<i>NHCl</i> :	Normalidad del ácido
<i>P</i> :	Peso seco de la muestra
<i>FD</i> :	Factor gravimétrico (0.006)

5.1.5.4 Recuento de microorganismos del suelo

Principio del método: La técnica de recuento de microorganismos viables en una muestra de suelos, consiste en contar el número de colonias que crecen en un medio sólido inoculado con diluciones de la muestra, cada colonia se asume que se origina de un solo propágulo "unidad formadora de colonia (UFC)", esto puede ser una célula bacteriana, endospora, fragmento de hifas o esporas, puede emplearse medio de cultivos selectivos o no (Margesin y Schinner, 2005).

Procedimiento:

- Colocar 10 g de suelo en 90 ml de solución salina (0,85%) estéril, esta es la dilución 10^{-1} . Para expresar la cantidad en peso seco del suelo, es necesario secar una cantidad similar de suelo a 105°C durante 24 horas.
- Agitar la dilución manual o mecánicamente, el tiempo puede variar.
- Realizar 5 veces diluciones mediante la transferencia de una muestra de 10mL de la solución en 90 ml de solución salina estéril.
- Tomar 1 ml de la solución 10^{-5} y sembrar en medio de cultivo PDA para hongos totales; por dilución, se emplearán 3 repeticiones. Cuando el inóculo ha sido absorbido dentro del agar, se invierten los platos y se colocan dentro de bolsas plásticas para mantener la humedad. Dejar durante 24-48 horas de incubación y contar las unidades formadoras de colonias.
- Realizar el factor de corrección para la dilución para el peso seco de 1 g de suelo.

5.1.6 Análisis estadísticos

Con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de productos (fungicidas y enmiendas orgánicas) sobre la actividad bioquímica y biológica del suelo, se realizó un análisis de varianza, se comprobaron los supuestos de homogeneidad y de normalidad mediante la prueba de Bartlett y la prueba de Shapiro-Wilk. También se empleó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey con base en un 95% de confiabilidad para determinar diferencias o agrupaciones estadísticamente significativas. Adicionalmente se realizaron análisis de regresión lineal y correlación mediante el coeficiente de correlación de Pearson, para determinar las relaciones entre diferentes variables evaluadas. Para todos los análisis se empleó el paquete estadístico SAS versión 9.0.

5.2 EXPERIMENTO 2: CONDICIONES DE CAMPO

5.2.1 Localización

El experimento se realizó en el municipio de Mariquita (Tolima) (Figura 8), finca El Triunfo situada en la latitud norte $5^{\circ} 12' 0''$ y longitud $75^{\circ} 1' 0''$ W altura de 495 msnm, temperatura promedio de 27°C y humedad relativa 70%. Se empleó un cultivo de aguacate variedad Lorena de 8 años de edad en fase de producción. Las determinaciones enzimáticas y biológicas se realizaron en el laboratorio de fitopatología del Centro de Investigación Nataima de CORPOICA (Espinal-Tolima).

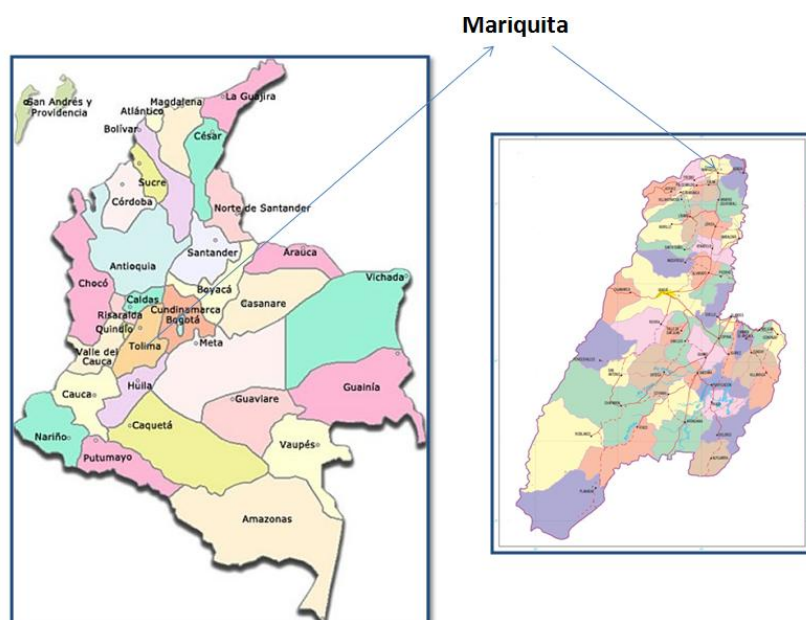


Figura 8. Localización del experimento en campo, Mariquita. Tolima.

5.2.2 Análisis físico y químico del suelo

Se tomó una muestra de suelo, de aproximadamente 500 g compuesta de cuatro submuestras. A dicha muestra se le realizó el análisis físico y químico: textura, estructura, contenido de humedad, curvas de retención de humedad, densidad aparente, porosidad, contenido de materia orgánica, pH, CIC y

concentración de macro y micronutrientes siguiendo las metodologías del IGAC, 1990.

5.2.3 Selección de los árboles para el experimento

Se seleccionaron árboles que presentaban síntomas de pudrición radical, para esto se empleó la escala de severidad de 0-9 propuesta por Castaño (1996). Esto con el fin de seleccionar árboles que se encuentren en las mismas condiciones fisiológicas y sanitarias.

5.2.4 Aplicación de productos químicos y bagazo de caña

El efecto de la aplicación de productos fúngicos y bagazo de caña sobre la actividad biológica del suelo, se realizó en una parcela experimental establecida previamente dentro del proyecto “Las Interacciones en la rizósfera como base para el manejo eficiente de la nutrición y sanidad del aguacate en Colombia”. Durante un año se aplicaron productos fúngicos y bagazo de caña empleados para el control de *Phytophthora cinnamomi*. Para la aplicación de los productos químicos en cada árbol seleccionado se trazó un círculo alrededor a 1 m de distancia del tallo. Sobre esta línea se descargaron cinco litros de los productos y tres litros se aplicaron en la base del árbol en forma de drench. Se realizaron las aplicaciones cada dos meses tanto de los fungicidas como bagazo de caña.

5.2.5 Diseño experimental

Se estableció un diseño experimental de bloques completos al azar con siete tratamientos y 4 bloques. A continuación se plantea el modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \alpha_j + \varepsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$$

$j= 1,2,3,4$

$\varepsilon_{ij} \sim \text{NIND}(0, \delta^2 I)$

Donde:

Y_{ijk} : Variable respuesta (actividad enzimática, respiración del suelo y conteo de unidades formadoras de colonias) debido al i -ésimo nivel del tipo productos químicos y enmiendas orgánicas, al j -ésimo nivel del tipo de bloques

μ : Media general sin considerar tratamientos

τ_i : Efecto debido i -ésimo nivel del tipo de productos químicos y enmiendas orgánicas sobre la variable respuesta.

α_j : Efecto debido j -ésimo nivel del tipo de bloques sobre las variables respuesta.

ε_{ijk} : Error experimental en el i -ésimo nivel del tipo producto químico y enmienda orgánica, al j -ésimo nivel del tipo de bloques.

Tratamientos:

T0: Control (Sin ningún producto)

T1: Ridomil Gold MZ 68 WP (Mefenoxam 4% + Mancozeb 64%), dosis 4 g/litro

T2: Ridomil Gold MZ 68 WP (Mefenoxam 4% + Mancozeb 64%), dosis de 8g/litro

T3: Rhodax 70 WP (Fosetil – Al 35% + Mancozeb 35 %) dosis de 4g/litro

T4: Rhodax 70 WP (Fosetil – Al 35% + Mancozeb 35 %) dosis de 8g/litro

T5: Cobertura vegetal de bagazo de caña (picado) 15 kg/planta

T6: Cobertura vegetal de bagazo de caña (picado) 15 kg/planta + *Trichoderma* spp (5g/L);

Variables respuesta: se determinó la actividad enzimática de: Fosfatasa acida, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa; respiración del suelo y recuento de población microbiana (hongos, bacterias y solubilizadores de fosforo).

5.2.6 Toma de muestras de suelo

Durante un año de aplicación de los productos químicos y bagazo de caña como enmienda orgánica se tomaron las muestras de suelo para determinar el posible efecto de los productos (tabla 2). Las muestras para análisis enzimático y microbiológico se tomaron a una profundidad de 0 a 15 cm con un muestreador y sobre la línea trazada a 1 m de distancia del tallo, donde hay influencia de las raíces. De cada árbol se tomaron 200 g aproximadamente, la muestra estuvo compuesta de cuatro submuestras. Estas se colocaron en bolsas plásticas y bolsas de papel previamente etiquetadas y se transportaron en frío al laboratorio de fitopatología del Centro de Investigación Nataima, donde se almacenaran a -20°C , hasta su posterior uso.

Tabla 2. Periodo aplicación de fungicidas y bagazo de caña y muestreo de suelo a realizar por cada tratamiento

Meses Aplicación	Actividad
0	Muestreo del suelo y aplicación de fungicidas y bagazo de caña
0,5 (15 días)	Muestreo de suelo
2,4,6,8,10	Aplicación de fungicidas y bagazo de caña
12	Muestreo de suelo

5.2.7 Métodos

Los protocolos para determinar la actividad enzimática de: Fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa; respiración del suelo y recuento de población microbiana (hongos), se explicaron en el ítem 5.1.5

5.2.8 Análisis estadísticos

Con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de productos (fungicidas y enmiendas orgánicas) sobre la actividad bioquímica y biológica del suelo, se realizó un análisis de varianza, se comprobaron los supuestos de homogeneidad y de normalidad mediante la prueba de Bartlett y la prueba de Shapiro-Wilk. También se empleó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey con base en un 95% de confiabilidad para determinar diferencias o agrupaciones estadísticamente significativas. Adicionalmente se realizaron pruebas de correlación de Pearson, para determinar las relaciones entre diferentes variables evaluadas. Para todos los análisis se empleó el paquete estadístico SAS versión 9.0.

6. RESULTADOS

6.1 EXPERIMENTO EN CONDICIONES DE LABORATORIO

6.1.1 Propiedades químicas del suelo en estudio

En la tabla 3, se presentan las características químicas y físicas del suelo perteneciente a la finca el Triunfo del municipio de Mariquita. De acuerdo al IGAC (1996), al realizar un estudio de taxonomía para suelos del departamento del Tolima, se consideró que los suelos de esta zona se clasifican como Inceptisoles. Los suelos de este orden presentan un desarrollo pedogenético moderado, ya que se aprecia la formación de horizontes diagnósticos úmbrico, por acumulación y humificación de materia orgánica, y cámbico por desarrollo de estructura, alteración de los minerales y liberación de óxidos de hierro que colorean y floculan los materiales edáficos. Muestran un horizonte A de 18 cm de espesor, color gris oliva, textura arenosa-arcillosa. De acuerdo con los análisis químicos son suelos ácidos, de capacidad catiónica de cambio baja, saturación total de bases alta, contenido de materia orgánica alta y contenido de fósforo disponible para las plantas alto.

Tabla 3. Propiedades químicas y físicas del suelo en estudio, proveniente de la finca El Triunfo, municipio de Mariquita.

Tipo de Análisis	Propiedad	
QUÍMICO	pH	4,9
	% MO	8
	P (ppm)	2,8-15.9
	Al (Cmol/kg)	0,63
	K (Cmol/kg)	0,29
	Ca (Cmol/kg)	1,21
	Mg (Cmol/kg)	0,59
	B (mg/kg)	0,18
	Cu (mg/kg)	1,2
	Fe (mg/kg)	214

	Mn (mg/kg)	4,7
	S (mg/kg)	8,4
	Zn (mg/kg)	0,6
FÍSICO	Arena (%)	45.6-65.6
	Arcilla (%)	30.4-40.4
	Limo (%)	4-14
	Denominación	A-Ar
	Den. Aparente (g/cm ³)	0.93-0,95
	Porosidad	62.58-63.23

6.1.2 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DEL SUELO EN ESTUDIO

El análisis de varianza mostró que la actividad de las enzimas deshidrogenasa, fosfatasas ácida y alcalina, se vio influenciada en forma diferente por los tratamientos establecidos. (Anexo 2).

6.1.2.1 ACTIVIDAD FOSFATASA ÁCIDA

Con base en la figura 9 se puede observar que la actividad enzimática fosfatasa ácida fue mayor en los suelos tratados con el bagazo de caña, con respecto al suelo control y los tratados con fungicidas.

La actividad enzimática de la fosfatasa ácida en los suelos tratados con el bagazo de caña + *Trichoderma* spp. presentó un valor máximo de 226,256 $\mu\text{gPNF.gss}^{-1}$, a los 90 días de incubación del suelo. En los cuatro momentos de muestreo se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al suelo control y demás tratamientos (Tabla 4). De acuerdo al análisis de regresión para este tratamiento se presentó un ajuste al modelo lineal (Anexo 1).

Se evidenció una disminución de la actividad enzimática en los suelos tratados con los fungicidas Fosetyl-Al y Mefenoxam, pero esta disminución de la actividad está asociada no solo a la naturaleza química de los productos sino a la dosis evaluadas. Para el caso del Fosetyl-Al en la dosis 2 (8 g/l), la actividad enzimática disminuyó los primeros 15 días en suelos tratados, pero a los 45 días se reportó un aumento en la actividad y a los 90 días se hizo igual estadísticamente al suelo control con una media de $153,368 \mu\text{g PNF.gss}^{-1}$ (Tabla 4). En el caso de la dosis 1 (4 g/l) en todos los momentos de muestreo se reportan valores por encima del suelo control, con un valor máximo de $205,616 \mu\text{g PNF.gss}^{-1}$ a los 90 días de incubación.

La menor actividad enzimática fue reportada para los suelos tratados con el Mefenoxam. Los suelos tratados con la dosis 1 (4g/litro) en los primeros quince días presentaron una actividad enzimática menor comparado con el suelo control $149,242 \mu\text{g PNF.gss}^{-1}$, pero luego presenta una recuperación y al cabo de 90 días es igual estadísticamente al suelo control con un valor medio de $154,691 \mu\text{g PNF.gss}^{-1}$ (Tabla 4). Mientras que los suelos tratados a la dosis 2 (8 g/litro) de Mefenoxam en todos los momentos de muestreo fueron menores con respecto al suelo control.

De acuerdo al análisis de regresión, los tratamientos con fungicidas en general presentaron un modelo de ajuste polinómico (Anexo 1).

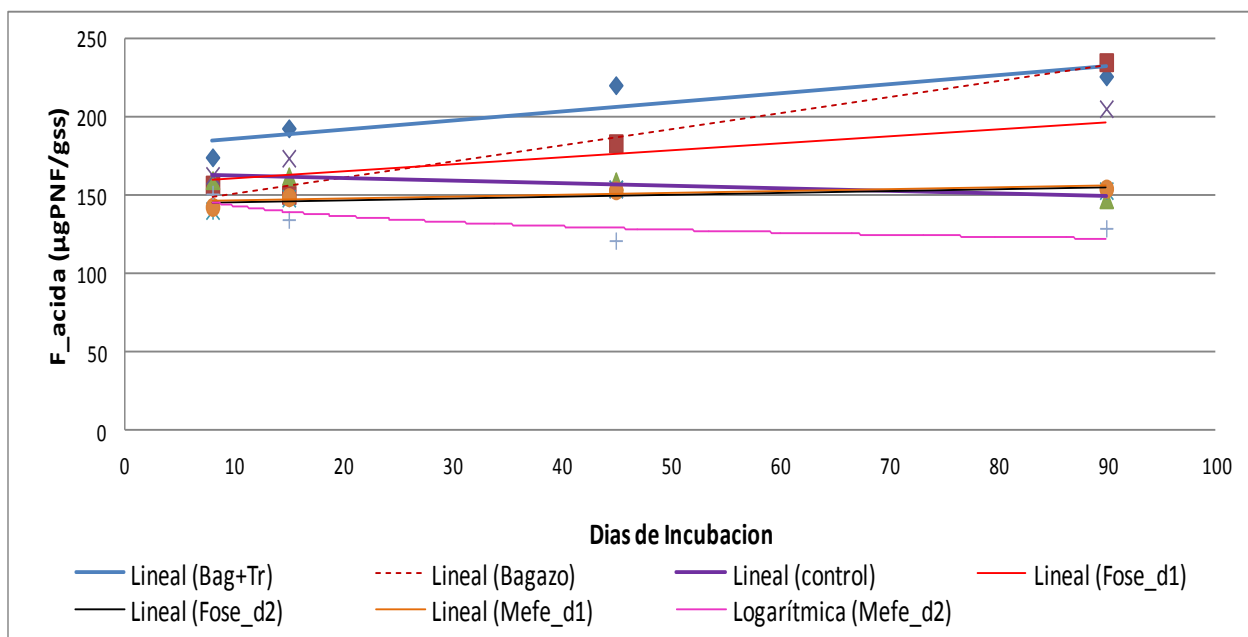


Figura 9. Actividad fosfatasa ácida en suelo tratado con fungicidas y bagazo de caña durante 90 días de incubación.

Tabla 4. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad fosfatasa ácida en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con productos químicos y enmiendas orgánicas.

Tratamientos	Promedios µg PNP/gss			
	Días de incubación			
	8	15	45	90
Bagazo+Tr	174,639 a	193,127 a	220,617 a	226,256 a
Fose-AI_D1	163,114 ab	174,062 ab	154,449 c	205,616 b
Control	160,076 abc	162,551 bc	159,410 bc	147,875 c
Bagazo	157,220 abcd	159,666 cd	183,604 b	235,284 a
Mefe_D2	151,304 bcd	134,883 d	121,504 d	129,328 d
Mefe_D1	147,032 cd	149,242 cd	153,646 c	154,691 c
Fose-AI_D2	140,651 d	148,591 cd	154,432 c	153,368 c

*letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

6.1.2.2 Actividad enzimática de fosfatasa alcalina

En la Figura 10 se muestra el comportamiento de la actividad fosfatasa alcalina en suelos tratados con fungicidas y enmienda orgánica durante 90 días. Suelos tratados con el bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* sp, presentaron la mayor actividad de esta enzima a los 90 días de incubación (Figura 10 y tabla 5), siendo estadísticamente diferentes al suelo control y demás tratamientos.

La menor actividad enzimática se presentó en los suelos tratados con los fungicida Fosetyl-Al a la dosis 2 (8 g /l), donde se estimó un mínimo de 11,095 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$ a los 90 días, estando por debajo del control 35,504 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$. Los suelos tratados con el Mefenoxan en las dosis 1 y 2, presentaron una baja actividad de esta enzima durante los primeros 15 días con valores de 23,647 y 18,310 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$, respectivamente; después de este tiempo hay un aumento de la actividad y al cabo de 90 días no presentaron diferencias estadísticamente significativas con los suelos control. En la tabla 5, se muestra el análisis de medias de Tukey $p \leq 0,05$ realizado en cada momento de muestreo.

El rango de la actividad de la fosfatasa alcalina a través de los 90 días, de duración del experimento varió entre 17,087y 55,924 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$, el cual es bajo si se compara con la actividad enzimática de la fosfatasa ácida cuyo rango se encontró entre 121,504 y 235,284 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$. Esto se debe principalmente a que la actividad fosfatasas en suelos está fuertemente relacionada con el pH. En este caso se trabajó con suelos ácidos, por lo que se esperaría una mayor actividad para esa enzima.

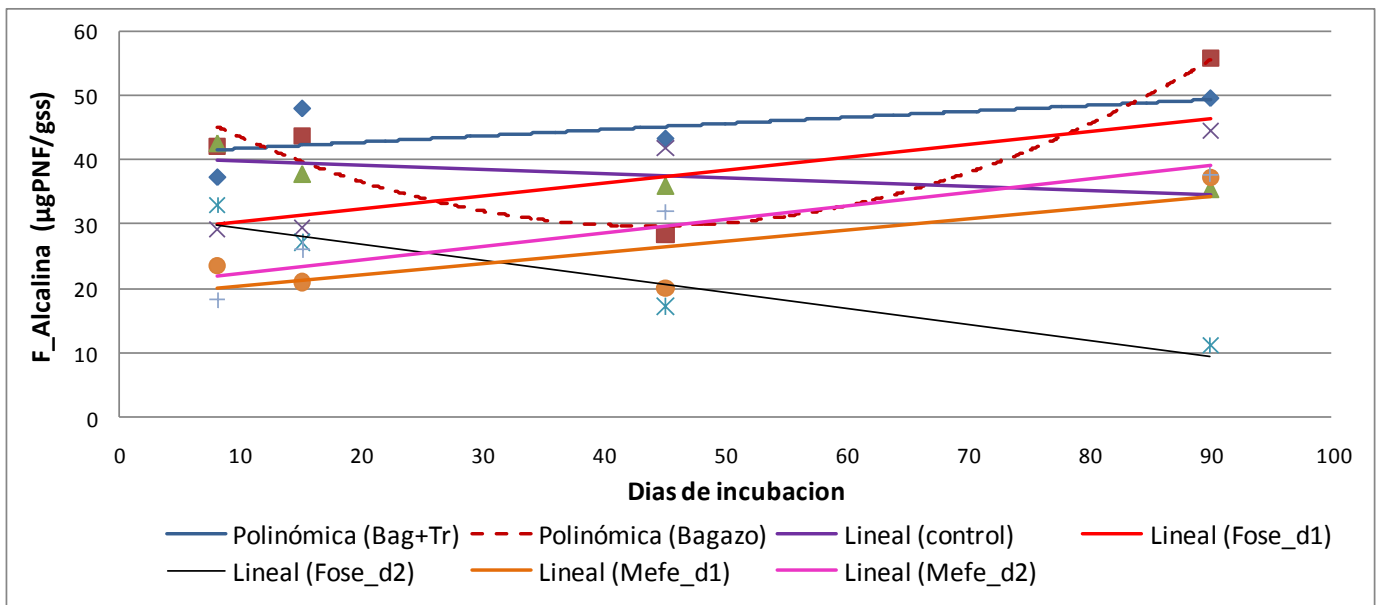


Figura 10. Actividad fosfatasa alcalina en suelo tratado con diferentes fungicidas y bagazo de caña durante 90 días de incubación

Tabla 5. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad fosfatasa alcalina en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.

Tratamientos	Promedios µg PNP/gss			
	Días de incubación			
	8	15	45	90
Bagazo	42,276 a	43,764 ab	28,443 d	55,924 a
Control	42,546 a	37,834 b	36,005 bc	35,504 d
Bagazo+Tr	37,326 ab	48,068 a	43,367 a	49,669 ab
Fose-AI_D2	32,849 bc	27,134 cd	17,087 e	11,095 e
Fose-AI_D1	29,255 cd	29,512 bc	42,076 ab	44,677 bc
Mefe_D1	23,647 de	21,056 d	20,209 d	37,178 d
Mefe_D2	18,310 e	26,179 cd	32,026 cd	37,856 cd

*letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

6.1.2.3 Actividad enzimática de deshidrogenasa

La actividad enzimática deshidrogenasa varió significativamente a través del periodo de incubación del suelo en cada uno de los tratamientos establecidos (Figura 11). Se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados para cada periodo de muestro; los suelos tratados con bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* spp presentaron una mayor actividad de esta enzima con valores de 40,475 y 31,323 $\mu\text{gTPF/gss}$, respectivamente al cabo de 90 días (Tabla 6).

Los suelos tratados con Mefenoxan en las dos dosis, presentaron la menor actividad de esta enzima; el mefenoxan d1 (4 g/l) presentó un ligero aumento a los 90 días de incubación con una actividad media de 18,083 $\mu\text{gTPF/gss}$, mientras que la actividad deshidrogenasa estimada para el mefenoxan d2 (8 g/l) siguió disminuyendo para el mismo periodo 9,092 $\mu\text{gTPF/gss}$, comparado al suelo control que presentó una actividad media de 29,359 $\mu\text{gTPF/gss}$ (Tabla 6). El fosetyl –Al en la dosis1, presenta una actividad intermedia y no presenta diferencias estadísticamente significicas al suelo control. De acuerdo al análisis de regresión, los tratamientos se ajustan mejor a un modelo polinómico (Anexo A).

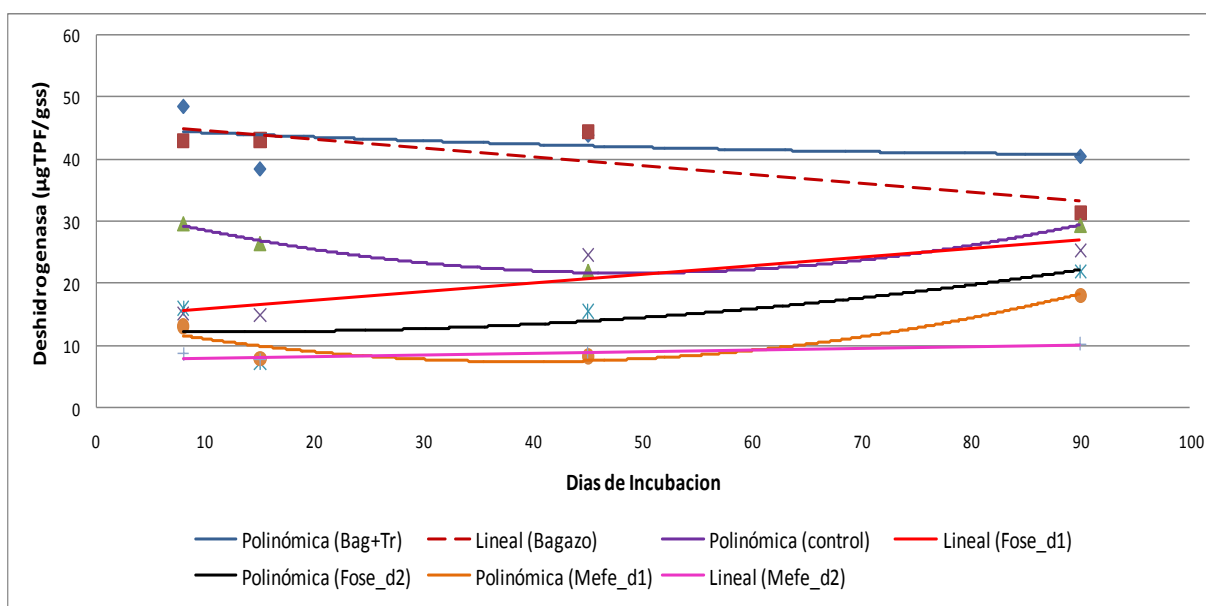


Figura 7. Actividad deshidrogenasa en suelos tratados con diferentes fungicidas y bagazo caña durante 90 días de incubación.

Tabla 6. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad enzimática deshidrogenasas en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.

Tratamientos	Promedios $\mu\text{g TPF/gss}$			
	Días de incubación			
	8	15	45	90
Bagazo+Tr	48,466 a	38,462 b	43,865 a	40,475 a
Bagazo	43,049 a	43,185 a	44,521 a	31,323 b
Control	29,620 b	26,434 c	21,988 b	29,359 bc
Fose-Al_D2	16,029 c	7,1428 e	15,520 c	21,965 de
Fose-Al_D1	15,099 c	14,817 d	24,576 b	25,390 cd
Mefe_D1	13,112 cd	7,947 e	8,260 d	18,083 e
Mefe_D2	8,603 d	7,608 e	8,727 d	9,092 f

*letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

6.1.3 PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL SUELO

6.1.3.1 Actividad microbiana (C-CO₂)

Como se observa en la Tabla 7 la respiración del suelo varió considerablemente a través del periodo de incubación. Ocho días después de la aplicación de Mefenoxam, Fosetyl-Al y bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* sp, se encontró que la respiración del suelo en todos los tratamientos fue estadísticamente mayor ($P \leq 0,05$) con respecto a las muestras de suelo no tratados (control). 90 días después de la aplicación de los productos se encontró, que los suelos tratados con el bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* spp aumentaron la respiración basal del suelo con un valor medio de 7,984 y 7,5130 mg-C-CO₂/50 gss,

respectivamente; presentado diferencias estadísticamente significativas con el suelo control y demás tratamientos.

Tabla 7. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la respiración del suelo en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.

Tratamiento	mg-C-CO ₂ /50 gss	
	Días de incubación	
	8	90
Mefe_D1	6,4042 a	6,3766 b
Fose-AI_D2	6,2062 a	5,9666 b
Bagazo+Tr	6,2052 a	7,984 a
Fose-AI_D1	6,1770 a	5,8842 b
Bagazo	6,1182 a	7,5130 a
Mefe_D2	5,9806 ab	5,9826 b
Control	5,3806 b	6,4320 b

*letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

6.1.3.2 Recuento de microorganismos del suelo

La actividad microbiana del suelo, estimada a través del conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) en medios de cultivos específicos para hongos, bacterias y solubilizadores de fósforo se vio influenciada por la aplicación de productos químicos y enmiendas orgánicas a través del periodo de incubación. A los 8 días siguientes a la aplicación de los productos químicos y el bagazo de caña se encontró que disminuyó la población de hongos para todos los tratamientos en un rango entre 185,80 a 473,20 UFC/gss en comparación a la lectura inicial (Tabla 8). Noventa días después de la aplicación de los tratamientos se observó un aumento en la población de hongos tanto en el suelo control como en suelos tratados con bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* sp, siendo este último el que presentó la mayor población de

hongos con un valor medio de 648,40 UFC/gss. Caso contrario se observó en los suelos tratados con los productos químicos en las dos dosis evaluadas donde hay una tendencia a disminuir la población fúngica presente en el suelo; el Foseyl-Al dosis 2 presentó el menor valor con una media de 205,20 UFC/gss (Tabla 8)

Tabla 8. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.

Tratamiento	UFC/ gss	
	Días de incubación	
	8	90
Fose-Al_D1	473,20 a	275,40 c
Bagazo+Tr	394,60 ab	648,40 a
Mefe_D1	365,80 ab	213,80 c
Bagazo	331,00 b	443,80 b
Mefe_D2	303,20 b	213,80 c
Fose-Al_D2	188,40 c	205,20 c
Control	185,80 c	447,40 b

Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

6.1.4 CORRELACION ENTRE PARÁMETROS EVALUADOS

Con base a la tabla 9, se evidenció que las actividades enzimáticas fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa y las variables microbianas presentan algún tipo de correlación. La correlación, de acuerdo a lo observado se debe al tipo de producto químico o principio activo aplicado a los suelos. En el caso de los suelos tratados con Mefenoxam, la fosfatasa ácida se correlacionó positivamente con la actividad deshidrogenasa ($r^2=0.488$ p 0.028) y la fosfatasa alcalina negativamente con las unidades formadoras de colonia

de hongos (UFC) ($r^2=-0.665$ $p= 0.009$). La respiración microbiana no se correlacionó estadísticamente con ninguna de las actividades enzimáticas evaluadas en los suelos tratados con Mefenoxam.

En los suelos tratados con Fosetyl-Al se evidenció una correlación positiva entre las fosfatasa ácidas y alcalina ($r^2= 0.826$ $p\leq 0.0001$). Este resultado es diferente a los reportados por otros autores donde las fosfatasa se relacionan negativamente entre sí.

Por otro lado, las actividades enzimáticas y parámetros microbianos en los suelos tratados con el bagazo de caña, presentaron un comportamiento diferente a los tratados con los fungicidas. La fosfatasa ácida se correlacionó positivamente con la fosfatasa alcalina ($r^2=0.789$ $p\leq 0.0001$) y negativamente con la deshidrogenasa ($r^2= -0.716$ $p\leq 0.0001$), de igual forma la fosfatasa alcalina se correlacionó negativamente con la actividad deshidrogenasa ($r^2= -0.791$ $p\leq 0.0001$).

De resaltar está la correlación positiva y estadísticamente significativa que se observó entre las actividades enzimáticas y la respiración basal del suelo (Tabla 9), que a su vez se correlacionó positivamente con las unidades formadoras de colonias (UFC) ($r^2= 0.776$ $p\leq 0.0001$), en los suelos tratados con el bagazo de caña

En este sentido, las coberturas vegetales como el bagazo de caña sirven como fuente de nutrientes para los microorganismos del suelo, que se ve representado en el aumento de la respiración basal del suelo y las actividades enzimáticas.

Tabla 9. Correlación entre actividades enzimáticas y actividad biológica en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.

Principio Activo	Parámetros	Fac.	Falc.	Desh	Respiración	UFC
MEFENOXAM	Fac.	1	-0,357	0.488	0.25449	0.0260
	Falc.	-	1	0.364	0.1022	-0.665
	Desh.	-	-	1	0.427	-0.351
	Respiración	-	-	-	1	0.111
	UFC	-	-	-	-	1
FOSETYL-AI	Fac	1	0.826	0.525	-0.339	0.228
	Falc	-	1	0.410	-0.140	0.664
	Desh	-	-	1	-0.406	-0383
	Respiración	-	-	-	1	0.121
	UFC	-	-	-	-	1
BAGAZO DE CAÑA	Fac	1	0.789	-0.716	0.876	0.645
	Falc	-	1	-0.791	0.657	0.371
	Desh	-	-	1	0.606	-0.279
	Respiración	-	-	-	1	0.776
	UFC	-	-	-	-	1

*Valores en negrita indican un nivel de significancia de $p \leq 0.05$)

6.2 EXPERIMENTO BAJO CONDICIONES DE CAMPO

6.2.1 Propiedades bioquímicas del suelo

El análisis de varianza mostró que la actividad de las enzimas deshidrogenasa, fosfatasa ácida y alcalina se vio influenciada en forma diferente por los tratamientos establecidos. Las Tablas 10, 11, 12 y 13 resumen el análisis de varianza en cada uno de los periodos de su determinación (Anexo 3).

6.2.1.1 Actividad enzimática de fosfatasa ácida

Como se observa en la Figura 12, la actividad enzimática de la fosfatasa ácida varió significativamente a través del periodo de incubación del suelo, de acuerdo a los diferentes tratamientos tanto químicos como enmiendas orgánicas. Suelos tratados con el bagazo de caña y bagazo de caña suplementado con *Trichoderma* spp presentaron la mayor actividad de esta enzima en todos los momentos de muestreo, alcanzando valores máximos de 275,50 y 309,75 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$, respectivamente.

Caso contrario se presentó en los suelos tratados con el Mefenoxam, cuya actividad enzimática se encontró por debajo de los valores reportados para el suelo control; La dosis 1 (4g/litro) de Mefenoxam en los primeros quince días presentó una actividad menor al suelo control con un valor medio de 206,418 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$, pero se hace igual estadísticamente al suelo control al final del experimento. La dosis 2 de Mefenoxam (8 g/litro) en todos los momentos de muestreo se encontró por debajo de los valores reportados para la actividad enzimática del suelo control, al final del experimento presentó un valor medio de 154,91 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$, mientras para el suelo control en ese momento de análisis se reporta 244,65 $\mu\text{g PNF.gss}^{-1}$ (Tabla 10).

Los suelos tratados con Fosetyl-Al presentaron una disminución de la actividad enzimática en los momentos de muestro, siendo diferentes estadísticamente

($P \leq 0,05$) al suelo control (Tabla 10). Al final del experimento se reportan valores medios de $138,03 \mu\text{g PNF.gss}^{-1}$ para suelos tratados con la dosis 1 y $180,16 \mu\text{g PNF.gss}^{-1}$ para la dosis 2.

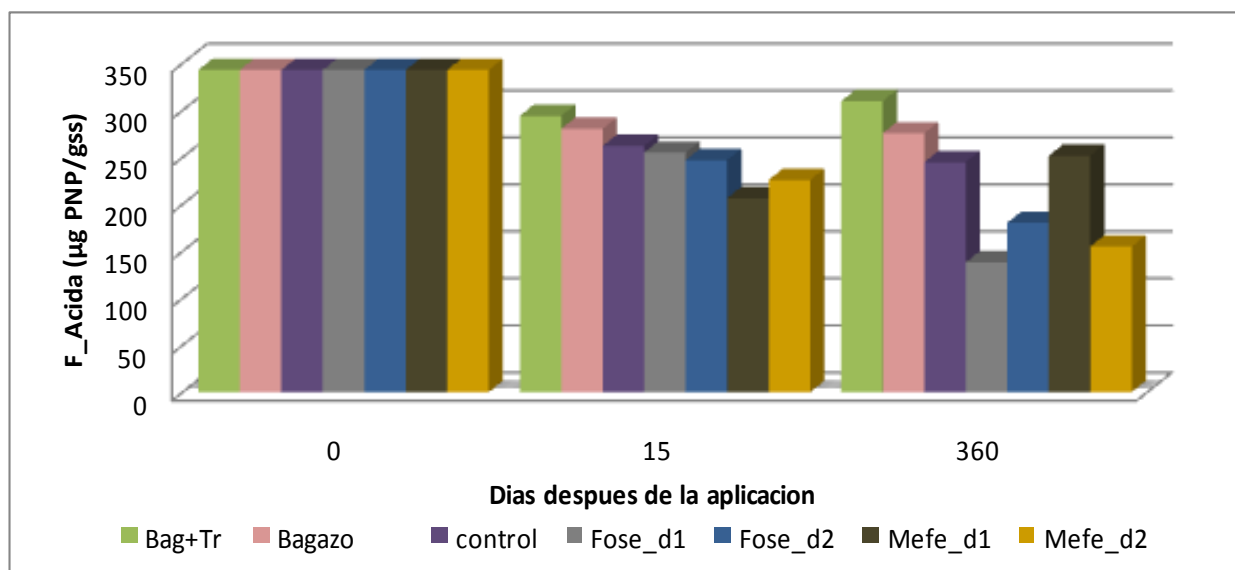


Figura 12. Actividad Fosfatasa ácida en suelos tratados con diferentes fungicidas y bagazo de caña en condiciones de campo.

Tabla 10. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad Fosfatasa ácida en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.

Tratamiento	Promedios $\mu\text{g PNP/gss}$ Días de incubación	
	15	360
Bagazo+Tr	293,998 a	309,75 a
Bagazo	280,283 ab	275,50 ab
Control	262,036 bc	244,65 b
Fose-AI_D1	254,923 c	138,03 c
Fose-AI_D2	246,918 cd	180,16 c
Mefe_D2	225,812 de	154,91 c
Mefe_D1	206,418 e	251,49 b

*Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Las muestras de todos los tratamientos, incluyendo los suelos sin tratar (control) presentaron un comportamiento similar; un aumento fuerte a los 15 días después del establecimiento del experimento con un rango de la actividad enzimática de 80,594 (en suelo control) a 161,903 $\mu\text{g PNP/gss}$, en suelos tratados con bagazo de caña suplementado con *Trichoderma*, y donde todos los tratamientos se hacen diferentes estadísticamente al suelo control (Tabla 11).

Un año después de aplicar los productos químicos y la enmienda orgánica se presentó una disminución fuerte de la actividad de esta enzima, cuyo rango fue de 56,031 (suelo control) a 102,685 $\mu\text{g PNP/gss}$ (suelos tratados con bagazo). Todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al suelo control, salvo los suelos tratados con Fosetyl-Al a la dosis dos que se hace igual estadísticamente con una media de 57,632 $\mu\text{g PNP/gss}$.

Tabla 11. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la actividad enzimática fosfatasa alcalina en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.

Tratamiento	Promedios $\mu\text{g PNP/gss}$	
	Días de incubación	
	15	360
Bagazo+Tr	161,903 a	76,348 b
Mefe_D1	134,474 b	72,090 bc
Fose-Al_D1	123,647 bc	84,060 b
Bagazo	111,820 cd	102,685 a
Mefe_D2	110,746 cd	79,676 b
Fose-Al_D2	100,66 de	57,632 c
Control	80,594 e	56,031 c

*Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

6.2.1.2 Actividad enzimática de Deshidrogenasas

Como se observa en la Figura 13 la actividad enzimática deshidrogenasa varió significativamente a través del periodo de incubación del suelo en cada uno de los tratamientos establecidos. Quince días después de establecido el experimento se observó un aumento de esta enzima en la mayoría de suelos tratados. Los suelos tratados con bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* reportaron la mayor actividad con valores medios de 211,056 y 193,354 $\mu\text{gTPF/gss}$, respectivamente; seguido de suelos tratados con Fosetyl-AI en las dos dosis y finalmente los suelos tratados con Mefenoxan (Tabla 12). El suelo sin tratar (control) se mantiene constante a través de los periodos de análisis.

Después de 12 meses de aplicación de los productos se observó una disminución en la actividad de esta enzima, especialmente en los suelos tratados con Mefenoxan en las dos dosis evaluadas. Los suelos tratados con bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* reportan la mayor actividad 136,611 y 108,083 $\mu\text{gTPF/gss}$, respectivamente; y los suelos con aplicación de Fosetyl-AI presentan una actividad intermedia.

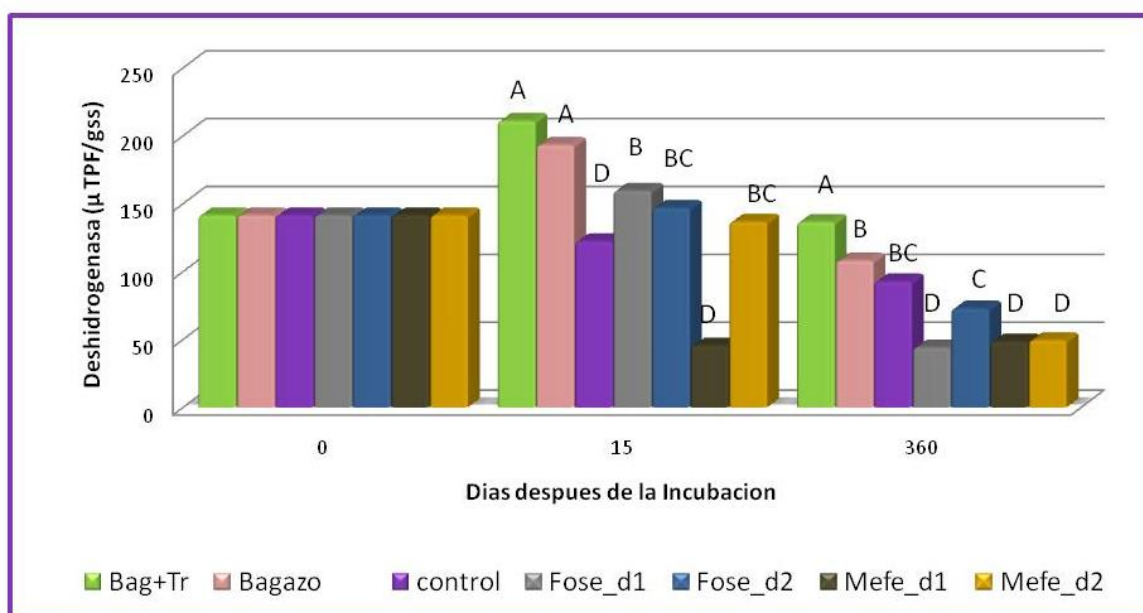


Figura 13. Actividad deshidrogenasa en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña en condiciones de campo.

Tabla 12. Prueba de comparación de promedios para actividad de deshidrogenasa en los momentos de muestreo

Tratamiento	Promedios $\mu\text{gTPF/gss}$	
	Días de incubación	
	15	360
Bagazo+Tr	211,056 a	136,611 a
Bagazo	193,354 a	108,083 b
Fose-Al_D1	159,068 b	44,136 d
Fose-Al_D2	146,953 bc	72,840 c
Mefe_D2	136,767 bc	49,479 d
Control	122,268 c	92,790 bc
Mefe_D1	45,548 d	48,506 d

*Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

6.2.2 Propiedades biológicas del suelo

6.2.2.1 Actividad microbiana (C-CO₂)

Como se observa en la figura 14 la respiración del suelo varió a través del periodo de incubación. Quince días después de la aplicación de mefenoxam, Fosetyl-Al y bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma*, se encontró que la respiración del suelo en todas las muestras fue significativamente menor ($P \leq 0,05$) en comparación a las muestras del suelo no tratados (control), tabla 13.

Doce meses después de aplicar los productos, los suelos tratados con bagazo de caña suplementado con *Trichoderma* y Fosetyl-Al D1 se hacen iguales estadísticamente con el suelo control ($P \leq 0,05$), con valores medios de 3,3257; 3,1312 y 3,1642 mg C-CO₂, respectivamente; En comparación a los suelos tratados con Mefenoxan (en dos dosis) y Fosetyl-Al D2 que presentaron menor actividad con valores de 2,7342, 2,6257 y 2,717 mg C-CO₂, respectivamente.

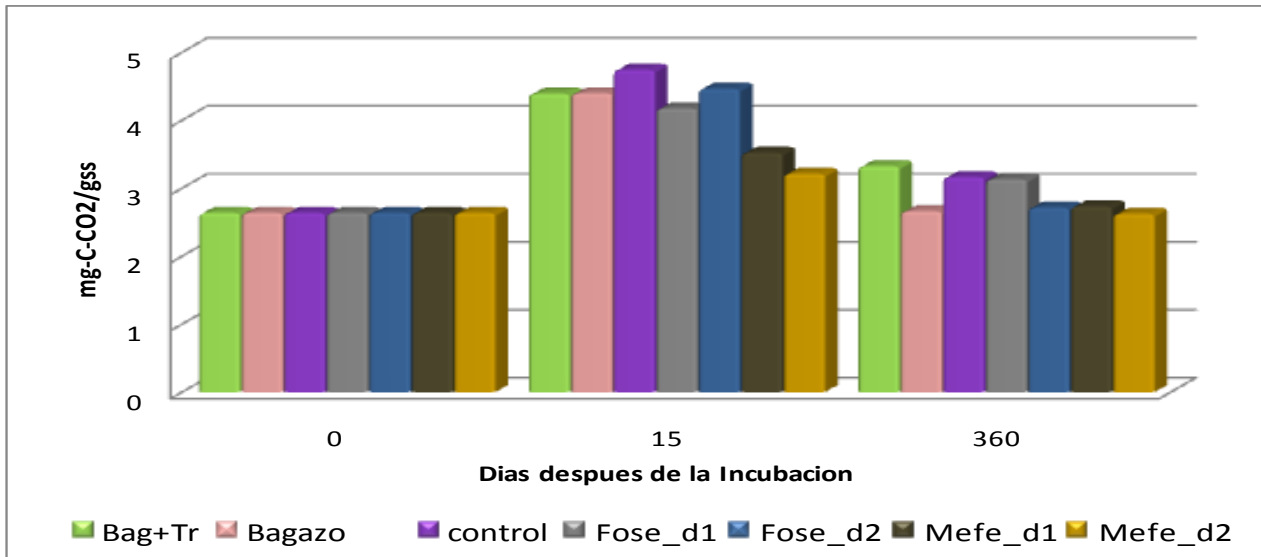


Figura 14. Respiración basal en suelos tratados con diferentes fungicidas y bagazo de caña en experimento en campo.

Según reporta Bolaños (2005), la actividad enzimática deshidrogenasa fue significativamente mayor en la rizósfera de plátano que recibieron un manejo ecológico, con un valor medio de 50.9 $\mu\text{g TPF.gss}^{-1}$, seguida por manejo químico 28.8 $\mu\text{g TTC/gss}$ y tradicional 19 $\mu\text{g TTC/gss}$.

Tabla 13. Análisis de medias según Tukey $p \leq 0,05$ para la respiración basal del suelo en diferentes momentos de muestreo en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña.

Tratamiento	Promedios mg-C-CO ₂ /gss	
	Días de incubación	
	15	360
Control	4,7435 a	3,1642 a
Fose-AI_D2	4,4657 ab	2,717 b
Bagazo	4,397 ab	2,662 b
Bagazo+Tr	4,392 ab	3,3257 a
Fose-AI_D1	4,1755 b	3,1312 a
Mefe_D1	3,5225 c	2,7342 b
Mefe_D2	3,2155 c	2,6257 b

*Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

7. DISCUSIÓN

7.1 Experimento en condiciones de laboratorio

Las actividades enzimáticas de los suelos juegan un papel importante en los procesos bioquímicos, incluyendo la mineralización y ciclado de nutrientes, descomposición y formación de la materia orgánica y la degradación de contaminantes (Martínez *et al.*, 2007). La principal fuente de enzimas en el suelo está dado por los exudados radicales y la actividad microbiana (Tabatabai, 1994).

La actividad enzimática ha sido propuesta como indicador temprano de la calidad de los suelos, ya que involucra el componente biótico y abiótico del mismo; en tanto que la actividad de las enzimas extracelulares como las fosfatasas, ureasas, β -glucosidasas y arilsulfatasas han sido ampliamente estudiadas por estar relacionadas con los ciclos del fósforo (P), nitrógeno (N), carbono (C) y azufre (S) (Acosta & Tabatabai, 2000; Yang *et al.*, 2008; Schachtman *et al.*, 1998); mientras que la actividad de enzimas intracelulares como las deshidrogenasas están asociadas con el componente microbiano del suelo (Beyer *et al.*, 1993).

Son diversos los autores que han reportado tanto los efectos positivos o negativos causados sobre la actividad enzimática de suelos al evaluar: prácticas de manejo (Salazar *et al.*, 2011), uso del suelo (Acosta, *et al.*, 2007), implementación de coberturas vegetales (Deng & Tabatabai, 1997), adición de fertilizantes orgánicos e inorgánicos, uso de químicos para el manejo de plagas y enfermedades (Liu *et al.*, 2009), entre otros.

Este trabajo se centró en estudiar el posible efecto de la aplicación de fungicidas de amplio uso y enmiendas orgánicas sobre la actividad biológica, tanto en condiciones de laboratorio como de campo.

En condiciones de laboratorio se encontró un efecto inhibitorio por parte de los fungicidas Fosetyl-Al y Mefenoxam sobre la actividad biológica y bioquímica del suelo. Mientras que los suelos tratados con bagazo de caña, en general, presentaron un efecto estimulante sobre las mismas variables.

Fosfatasa ácida

La actividad fosfatasa ácida fue estadísticamente mayor ($P \leq 0.05$) en los suelos tratados con bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* durante los 90 días que duró el periodo experimental.

Los suelos tratados con el fungicida Fosetyl-Al en las dos dosis evaluadas presentaron una actividad intermedia, donde los primeros 15 días fue menor la actividad de la enzima, comparada con el valor estimado en el suelo control; luego del día 45 presentó un aumento de la actividad.

En el caso de los suelos tratados con el fungicida Mefenoxam se encontró la menor actividad de esta enzima; además se evidenció un efecto dependiente de la concentración, ya que los suelos tratados con la dosis 1 (4 g/l) presentaron una disminución de la actividad fosfatasa ácida 8 días después de la aplicación; pero en los muestreos siguientes se determinó un aumento, siendo igual estadísticamente al valor del suelo control después de 90 días de la aplicación. Caso contrario sucede con la dosis 2 (8 g/l) que en todos los momentos de muestreo fue inferior estadísticamente al suelo control ($p \leq 0.05$).

Resultados similares son reportados por Sukul (2006) al evaluar el efecto del fungicida Metalaxyl, encontró que las actividades enzimáticas deshidrogenasas, fosfatasas, arilsulfatasa, β -glucosidasa incrementaron los primeros 30 días y luego decrecieron; mientras que la actividad ureasa presentó un decrecimiento gradual desde el día 10 al 60 de incubación. Cycon, *et al.*, (2010) evaluaron la mezcla de los fungicidas Mancozeb y Dimethomorph encontraron que la mezcla de fungicidas afectó negativamente la actividad de las fosfatasas ácidas y alcalinas.

Caso contrario reportaron Monkiedje *et al.*, (2002) en un estudio en el que el Mefenoxan presentó un efecto estimulante en la actividad fosfatasa ácida a través de todo el experimento, excepto a los 90 días, donde se observó un efecto inhibitorio en la mayor dosis evaluada. Tejada *et al.*, (2011) también reportaron un aumento en las actividades enzimáticas deshidrogenasas y fosfatasas al adicionar el fungicida Prochloraz. Esto se debe posiblemente a que las comunidades microbianas del suelo involucran una compleja relación

entre organismos de diferentes niveles tróficos; algunos grupos microbianos tienen la capacidad de usar los pesticidas aplicados como una fuente de energía y nutrientes para multiplicarse, y para otros grupos los pesticidas pueden ser tóxicos.

Fosfatasa alcalina

La actividad fosfatasa alcalina en los suelos tratados con el bagazo de caña suplementado con *Trichoderma* presentaron la mayor actividad enzimática en todos los momentos de muestro, siendo diferente estadísticamente a los demás tratamientos; los suelos tratados con los fungicidas Mefenoxan presentaron una disminución de la actividad a los 8 días después de aplicados los productos, pero tiende a aumentar al final del experimento; mientras que en los suelos tratados con el Fosetyl-Al a la dosis 2 tiende a disminuir.

Los suelos tratados con solo bagazo de caña presentaron un comportamiento poco claro, ya que a los 45 días después de aplicado el producto se evidenció una disminución muy fuerte de la actividad, sin embargo, esta disminución no solo se dio en estos suelos, sino que también se presentó en los suelos control, por lo tanto podría atribuirse este comportamiento a las condiciones de incubación y no precisamente al efecto del tratamiento.

Monkiedje *et al.*, (2002) reportaron que la fosfatasa alcalina fue la enzima más sensible al Mefenoxan en los periodos de incubación de 14, 30 y 90 días.

Suelos tratados con Tebuconazole presentaron baja actividad de la fosfatasa alcalina a los 30, 60 y 90 días después de la aplicación del fungicida (Borja *et al.*, 2011); mientras que suelos tratados con mefenoxam y la mezcla de mefenoxan+ Cobre no revelaron ningún cambio en la actividad fosfatasa alcalina, salvo algunos cambios sutiles que ocurrieron al día 60 (Demanou *et al.*, 2006).

Deshidrogenasas

La actividad enzimática deshidrogenasa, es la enzima que permitió ver claramente el efecto inhibitorio generado por la aplicación de los fungicidas y el efecto estimulante generado por la adición de enmiendas orgánicas. Los suelos tratados con el bagazo de caña presentaron la mayor actividad enzimática en todos los muestreos, mientras que los suelos tratados con el Fosetyl-Al y Mefenoxan en las dos dosis, en todos los momentos de muestreo fueron menores estadísticamente al suelo control.

Chen *et al.*, (2001) reportaron que los suelos tratados con fungicidas Benomyl, Chlorothalonil y Captan, presentaron una disminución en la actividad enzimática deshidrogenasas durante las dos primeras semanas de incubación.

Según Cycon *et al.*, (2010) al aplicar la mezcla de los fungicidas Mancozeb y Dimethomorph la actividad deshidrogenasa fue inhibida entre un 29 a 91% en todas las dosis evaluadas durante el periodo de incubación con relación al suelo control.

Monkiedje *et al.*, (2002) encontraron que 14 días después de la aplicación de los fungicidas Mefenoxam y Metalaxyl la actividad deshidrogenasa fue significativamente menor que en las muestras no tratadas (control), indicando un severo efecto inhibitorio de estos fungicidas en la actividad deshidrogenasa, donde altas dosis exhiben un mayor efecto.

De acuerdo a Demanou *et al.*, (2004) el Ridomil Gold plus, afectó significativamente la actividad deshidrogenasa presentando valores muy inferiores comparado a los suelos control. Caso contrario fue reportado por Borja *et al.*, (2011) al aplicar Tebuconazole no se encontró un efecto claro en la actividad deshidrogenasas.

De acuerdo a los autores antes mencionados, una de las principales razones en la disminución de la actividad de las enzimas tanto extracelulares (fosfatasas) como intracelulares (deshidrogenasas), es debido a que las aplicaciones de los fungicidas matan o inhiben la actividad de los microorganismos, lo cual puede llevar a la inmediata reducción de la respiración, la biomasa y la síntesis de enzimas.

Estos planteamientos concuerdan con los resultados obtenidos en este trabajo, donde el conteo de unidades formadoras de colonias de hongos y la respiración basal fueron menores en los suelos tratados con los fungicidas Mefenoxan y Fosetyl-Al, aun por debajo del suelo control. Esto podría explicar el comportamiento de la fosfatasa alcalina en dichos suelos, ya que según Nannipieri & Greco (1990), la fuente principal de la fosfatasa alcalina son los hongos.

Por otro lado, los suelos con el bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* presentaron una mayor actividad microbiana, medida a través de UFC de hongos y respiración basal; además estas dos variables tuvieron un coeficiente de correlación de 0.776 ($p \leq 0.05$). Esto pudo deberse a que el bagazo de caña es una fuente rica en carbono, que es rápidamente empleado por los microorganismos del suelo aumentando la biomasa microbiana y por ende, los procesos metabólicos como la respiración basal y las actividades enzimáticas.

Con respecto a lo anterior Benítez *et al.*, (2000), reportaron un aumento de la actividad enzimática fosfatasa y deshidrogenasa en la rizósfera de pimiento tratada con pasta de olivo seca. Esto se debe probablemente al hecho de que estas coberturas vegetales son una fuente rica principalmente en C que es empleado por los microorganismos nativos del suelo. Además de las virtudes que tiene el uso de coberturas como es la reducción de la evaporación del agua de la superficie del suelo, mejora del crecimiento de las raíces, favorece el consumo de nutrientes por las plantas y actúa como agente de biocontrol.

Resultados similares son planteados por Miura *et al.* (2013), donde la aplicación de bagazo de caña al suelo, incrementó el contenido de materia orgánica y la población de hongos.

7.2 Experimento en condiciones de campo

En cuanto al efecto de la aplicación de fungicidas sobre la actividad biológica y bioquímica de suelos, son pocos los trabajos realizados en condiciones de campo. La mayoría de trabajos se enfocan en condiciones controladas de laboratorio, debido al gran número de factores bióticos y abióticos que interactúan en el suelo.

Generalmente el comportamiento de la actividad fosfatasa ácida, presentó un comportamiento similar al reportado para las condiciones de laboratorio. Los suelos tratados con el bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma* presentaron mayor actividad enzimática, mientras que los suelos tratados con el Fosetyl-Al y Mefenoxam reportaron actividades enzimáticas iguales o inferiores al suelo control.

La actividad enzimática fosfatasa alcalina no mostró un comportamiento claro, presentando una disminución de la actividad enzimática incluso en los suelos control. Por tanto la inhibición enzimática no puede ser considerada como un efecto del tratamiento.

La actividad enzimática deshidrogenasa disminuyó en los suelos de todos los tratamientos establecidos. Sin embargo, se pudo observar que los suelos tratados con el bagazo de caña presentaron una mayor actividad enzimática.

La respiración microbiana también disminuyó considerablemente en todos los tratamientos incluyendo el suelo control. Sin embargo, los suelos tratados con el bagazo de caña suplementado con *Trichoderma* tuvo la mayor actividad para esta variable. Esto se debe posiblemente a que se le adicionó el biocontrolador *Trichoderma*.

El comportamiento variable observado en la actividad enzimática en condiciones de campo, puede deberse a que las fosfatasas son exoenzimas que pueden ser protegidas de la degradación, al ser adsorbidas por las arcillas o sustancias húmicas (Demanou *et al.*, 2004). Este planteamiento concuerda con el tipo de suelo empleado en este estudio, que es Arcilloso, lo que podría generar un encapsulamiento de las enzimas y evitar de esa forma su estimación.

De acuerdo a los resultados obtenidos y la revisión de literatura se puede observar que las actividades enzimáticas empleadas como indicadores de calidad de suelo, pueden ser afectadas por una gran variedad de procesos químicos, físicos y biológicos, como: el pH del suelo (Deng y Tabatabai 1997), la profundidad de muestreo (Bolaños 2006), la especie vegetal cultivada (Acosta *et al.*, 2007), el tipo y uso del suelo (Acosta *et al.*, 2008); que pueden enmascarar el efecto directo o indirecto causado por los productos químicos evaluados; por tal razón, Trasar *et al.*, (2008) consideran pertinente el uso de una amplia gama de indicadores, para abarcar de una forma más holística las interacciones que son llevadas a cabo en el suelo.

Marsden y Gray (1986) indican que las relaciones entre actividad enzimática, suelo y parámetros microbianos, no son con frecuencia claramente observados en el campo, debido a la complejidad de las interacciones enzima-sustrato y las funciones complementarias de algunas de esas enzimas.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el experimento en condiciones de laboratorio y en condiciones de campo, se pudo observar la variabilidad en el comportamiento de la actividad enzimática del suelo. En la primera etapa en condiciones de humedad y temperatura controladas se ve una tendencia clara de las tres enzimas al ser afectadas por dos situaciones: 1) los suelos tratados con la cobertura vegetal bagazo de caña y *Trichoderma* sp., muestran un efecto positivo de la actividad enzimática de las tres enzimas evaluadas y 2) suelos tratados con los productos químicos tienden a afectar negativamente dicha actividad enzimática.

Al evaluar estos tratamientos en condiciones de campo, se observó que no hay un comportamiento claro de las enzimas estudiadas, ni siquiera en el suelo control (sin ningún tipo de tratamientos). Esta variabilidad puede estar relacionada con la época del año, tipo de suelo, contenido de arcillas, aplicación de fertilizantes, desarrollo fenológico de las plantas y no precisamente con la aplicación de fungicidas y coberturas vegetales en el suelo. A esto se le puede sumar el hecho de que solo se realizaron dos muestreos en el año, lo que no permitió estimar la variabilidad temporal de las actividades enzimáticas.

CONCLUSIONES

En condiciones experimentales de laboratorio, la actividad enzimática de fosfatasas ácidas y alcalinas, varió significativamente entre los tratamientos establecidos. Los suelos tratados con el bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma*, presentaron la mayor actividad enzimática.

La actividad deshidrogenasa en condiciones de laboratorio, fue la enzima que presentó mayor sensibilidad a los fungicidas Mefenoxam y Fosetyl-Al. Mientras que las coberturas vegetales como el bagazo de caña, estimulan la producción de este tipo de enzimas.

El bagazo de caña se correlacionó estadísticamente con la respiración basal del suelo, y esta última con la población de hongos en el suelo. Como es de esperarse, esta enmienda orgánica es una fuente rica de Carbono, que estimula el desarrollo de la población microbiana del suelo, lo cual lleva a un aumento de las actividades enzimáticas, especialmente deshidrogenasas.

En condiciones experimentales de campo, no se encontró un efecto significativo de la actividad enzimática de las fosfatasas con los tratamientos establecidos. Mientras que la actividad deshidrogenasa se vio influenciada negativamente por los fungicidas Mefenoxam y Fosetyl-Al y positivamente, por el bagazo de caña suplementado o no con *Trichoderma*.

En condiciones de campo, la respiración basal del suelo, aumentó con la aplicación de las enmiendas orgánicas en el suelo, mientras que la población de hongos se mostró indiferente a la aplicación de los diferentes tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, V. & Tabatabai, M.A. 2000. Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol Fertil Soils* 31:85-91

Acosta, V., Cruz, L., Sotomayor, D., Pérez, A. L. 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*.Vol. 35: 35–45.

Acosta, V., Acosta, D., Sotomayor, D., Cruz, L. 2008. Microbial communities and enzymatic activities under different management in semiarid soils. *Applied soil ecology*, vol. 38:249 – 260.

Alef, K. & Nannipieri, P., 1995. *Methods in applied soil microbiology and Biochemistry*. 288 p.

Avellaneda, L.M. 2008. Actividades enzimáticas del suelo con y sin historia de uso agrícola y manejo convencional y de sus consorcios bacterianos. Tesis para optar al título de Magister en Ciencias-Química. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Química.

Balota, E., Colozzi, A., Andrade, D., Dick, R. 2003. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. *Biology and Fertility of Soils*. Vol. 38:15–20.

Benítez, E., Melgar, R., Sainz, H., Gómez, M., Nogales, R. 2000. Enzyme activities in the rhizosphere of pepper (*Capsicum annuum*, L.) grown with olive cake mulches. *Soil Biology & Biochemistry*. Vol.32: 1829–1835.

Beyer, L. Waehendorf, C., Eisner, D., Knabe, R. 1993. Suitability of dehydrogenase activity assay as an index of soil biological activity. *Biology and Fertility of Soils*. Vol. 16:52-56.

Bolaños, M., 2006. Evaluación de actividad enzimática (deshidrogenasa, proteasa, fosfatasa y arilsulfatasa) en la rizósfera de plátano (*MusaAAB*): relación con propiedades de un andisol. Tesis de Doctorado en ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional Sede Palmira. 214 Pág.

Bonanomi, G., Gaglione, S., Incerti, G., Zoina, A. 2013. Biochemical quality of organic amendments affects soil fungistasis. *Applied Soil Ecology* 72 135– 142.

Borja, I., Ruiz, E., Antigüedad, I., Garbisu, C. 2011. Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity. *Soil Biology & Biochemistry* 43: 2176-2183

Caldwell, B. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia*. Vol. 49:637-644.

Carrenho, R., Trufem, S., and Bononi, V. 1998. Arbuscular mycorrhizal fungi in *Citrus sinensis*/C. *limon* treated with Fosetyl-Al and Metalaxyl. *Mycol. Res.* 102 (6): 677–682.

Cerón, L., Melgarejo, M. 2005. Enzimas del suelo: Indicadores de salud y calidad. *Acta Biológica Colombiana*. Vol. 10:1-6.

Chen, S., Edwards, C., Subler, S. 2001. Effects of the benomyl, captan and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. *Soil Biology & Biochemistry* 33 1971-1980.

Coffey, M.D., & Joseph, M.C. 1985. Effects of phosphorous acid and Fosetyl-Al on the life cycle of *Phytophthora cinamomi* and *P. citrícola*. *Phytopathology*. Vol 75.N 9.

Cruz, Lina C. Estandarización del proceso de producción masiva del hongo *Trichoderma koningii* Th 003 mediante fermentación bifásica a escala piloto. Bogota, 2007, 148 h. Tesis de grado (Microbiólogo Industrial). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Microbiología Industrial.

Cycon, M., Piotrowska-Seget, Z., Kozdrój, J. 2010. Responses of indigenous microorganisms to a fungicidal mixture of mancozeb and dimethomorph added to sandy soils .International Biodeterioration and Biodegradation. Vol. 64:316e323.

Demanou, J., Monkiédje, A., Njiné, T., Foto, S., Nola, M., Zebaze, S., Kemka, N. 2004. Changes in Soil Chemical Properties and Microbial Activities in Response to the Fungicide Ridomil Gold Plus Copper. International Journal of Environmental Research and Public Health. Vol 1: 26-34.

Demanou, J., Sharma, S., Dorfler, U., Schroll, R., Pritsch, K., Njine, T., Bausenwein, U., Monkiedje, A., Munch, J.C., Schloter, M. 2006. Structural and functional diversity of soil microbial communities as a result of combined applications of copper and mefenoxam. Soil Biology & Biochemistry. Vol 38: 2381–2389.

Deng, S.P. & Tabatabai, M.A. 1997. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. Biology and Fertility of Soils. Vol. 24:141–146.

Deng, S.P., & Tabatabai, M.A., 1994. Cellulase activity of soil. Soil. Biol. Biochem. Vol 26. N 10.

Downer, a J, J a Menge, and E Pond. 2001. “Association of Cellulytic Enzyme ctivities in Eucalyptus Mulches with Biological Control of *Phytophthora cinnamomi*.” Phytopathology 91(9): 847-55.

Ekenler, M. & Tabatabai, M. A. 2003. Tillage and residue management effects on b-glucosaminidase activity in soils. Soil Biology and Biochemistry. Vol 35: 871–874.

García, C., Gil, F., 2003. Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medidas de actividad enzimática y biomasa microbiana. Ediciones mundi prensa (española).

García, G., Marín, M., Jaramillo, S., Cotes, J. 2008. Sensibilidad de aislamientos colombianos de *Phytophthora infestans* a cuatro fungicidas sistémicos. Agronomía Colombiana 26(1), 47-57.

Huang, J., Li, H., Yuan, H. 2006. Effect of organic amendments on *Verticillium* wilt of cotton. Crop Protection 25 1167–1173.

Instituto Geográfico Agustín Codazzi. 1996. Estudio general de suelos y zonificación de tierras del departamento del Tolima. Bogotá 169 pág.

Klein, E., Katan, J., Gamliel, A. 2011. Combining residues of herb crops with soil heating for control of soilborne pathogens in a controlled laboratory system Crop Protection 30 368-374

Lavelle, P. & Spain, A. 2003. Soil Ecology. Edit. Kluwer Academic Publishers. 677

Lizarazo, L.M., Jordá, J.M., Juárez, M., Sánchez-Andreu, J. 2005. Effect of humic amendments on inorganic N, dehydrogenase and alkaline phosphatase activities of a Mediterranean soil. Biology and Fertility of Soils. Vol. 42: 172–177.

Liu, F., Ying, G.G., Tao, R., Zhao, J.L., Yang, J.F., Zhao, L.F. 2009. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. Environmental Pollution, Vol. 157:1636–1642.

Margesin, R., & Schinner, F. 2005. Manual of soils Analysis. Monitoring and Assessing soil bioremediation. Edit. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 370 p.

Martínez, V., Cruz, L., Sotomayor, D. y Perez. L. 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology* 35:35-45.

Masciandaro, G., Ceccanti, B., Ronchi, V., Bauer, C. 2000. Kinetic parameters of dehydrogenase in the assessment of the response of soil to vermicompost and inorganic fertilisers. *Biology and Fertility of Soils*. Vol. 32:479–483.

Michel, A., Otero, M.A., Rebolledo, O., Lezama, R. 2005. Producción y efecto de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma* spp en la inhibición de *Fusarium subflutinans* In Vitro. En: *Revista Chapingo Serie horticultura*. Vol. 11, No. 2

Mirás, J.M., Sande, P., Vidal, V. 2007. Actividad deshidrogenasa en dos posiciones topográficas de un suelo de cultivo. *Xeoloxia*. Vol. 32 151-163.

Miura, T., Niswati, A., Swibawa, G., Haryani, S., Gunito, H., Kaneko, N. 2013. No tillage and bagasse mulching alter fungal biomass and community structure during decomposition of sugarcane leaf litter in Lampung Province, Sumatra. Indonesia. *Soil Biology & Biochemistry* 58 27-35

Monkiedje, A., Spiteller, M., Jacqueline, S., Noupoho, M., Sukul, P. 2007. Influence of metalaxyl- and mefenoxam-based fungicides on chemical and biochemical attributes of soil quality under field conditions in a southern humid forest zone of Cameroon. *Soil Biology & Biochemistry*. Vol 39: 836–842.

Monkiedje, A., Olusojillorib, M., Spiteller, M. 2002. Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 34: 1939–1948.

Monkiedje, A., Spiteller, M. 2005. Degradation of Metalaxyl and Mefenoxam and Effects on the Microbiological Properties of Tropical and Temperate Soils. *International Journal of Environmental Research and Public Health* .Vol.2: 272–285.

Muñoz, L., Ruiz, B., Antigüedad, I., Garbisu, C. 2011. Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity. *Soil Biology & Biochemistry*. Vol. 43:2176 – 2183.

Nannipieri, P. & Greco, S. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. In: J.M Bollang and Stozky. *Soil biochemistry* vol. 6.

Núñez, M., Larregla, S., Garbisu, C. 2011. Application of organic amendments followed by soil plastic mulching reduces the incidence of *Phytophthora capsici* in pepper crops under temperate climate. *Crop Protection* 30 1563-1572.

Ochoa, V., Hinojosa, B., Gómez, B., García, R. 2007. Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos. *Ini Inv*, 2.

Öztürk Çalı. 2008. The effects of fosetyl-Al application on morphology and viability of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Pollen. Plant soil environ.*, 54, 2008 (8): 336–340.

Páez, O., Gómez, L., Brenes, A., Valverde, R. 2001. Resistencia de aislamientos de *Phytophthora infestans* al metalaxyl en el cultivo de papa en Costa Rica. *Agronomía costarricense*. Vol. 25 N 01. 33-44

Pinton, R., Varanini, Z. 2007. Nannipieri, P. *The Rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. Edi. Taylor & Francis Group. 470 p.

Piotrowska, A., Długosz, J., Namysłowska-Wilczyńska, B., Zamorski, R. 2011. Field-scale variability of topsoil dehydrogenase and cellulase activities as affected by variability of some physico-chemical properties. *Biology and Fertility of Soils*. Vol 47:101–109.

Pliego, P., Cazorla, F., Gonzalez, M. A., Perez, R. M., Vicente, A, Ramos, C. 2007. Selection for biocontrol bacteria antagonistic toward *Rosellinia necatrix* by

enrichment of competitive avocado root tip colonizers. *Research in Microbiology* 158: 463-470.

Porras, Andrea. Evaluación de la actividad in Vitro del género *Hypocrea* contra dos hongos fitopatógenos de importancia agrícola *Fusarium* sp. Y *Miscena citricolor*. Costa rica, 2000, 97 h. Tesis de grado (Ingeniería Biotecnológica).

Salazar, S., Sánchez, L. E., Alvarez, J., Valverde, A., Galindo, P., Igual, J.M., Peix, A., Santa-Regina, I. 2011. Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. *Ecological Engineering*. Vol. 37:1123–1131.

Sardar, K., Qing, C., Abd E., H., Yue, X., zheng, H. 2007. Soil enzymatic activities and microbial community structure with different application rates of Cd and Pb. *Journal of Environmental Sciences*. Vol. 19:834–840.

Schachtman , D., Reid, R., Ayling, S.M. 1998. Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiology*. Vol. 116: 447–453.

Sistema de información e inteligencia de mercados, SIIM, Boletín N.1 Mayo 2010. Análisis de mercado del aguacate

Sukul, P. 2006. Enzymatic activities and microbial biomass in soils influenced by metalaxyl residues. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol.38 :320–326.

Stryer, L., Berg, J., Tymoczko, J. 2008. *Bioquímica*. 6 ed. 1026 p.

Tamayo, M. P. J. 2008. Enfermedades y Desórdenes Abióticos. En: *Tecnología para el cultivo del Aguacate*. Manual Técnico 5. CORPOICA Centro de Investigación La Selva. Rionegro, Antioquia. 241 pág.

Tejada, M., Gómez, I., García, A.M., Osta, P., Parrado, J. 2011. Effects of Prochloraz fungicide on soil enzymatic activities and bacterial communities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 74:1708–1714.

Trasar-Cepeda, C., Leiro´s, M.C., Gil-Sotres, F. 2008. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology & Biochemistry*. Vol 40:2146–2155.

Verdú, G. 1984. Efecto inhibitor de algunos biocidas sobre la actividad enzimática del suelo. *Bol. Serv. Plagas*, Vol. 10: 257-298.

Yang, L., Li, T., Li, F., Lemcoff, H., Cohen, S. 2008. Fertilization regulates soil enzymatic activity and fertility dynamics in a cucumber field. *Scientia Horticulturae*. Vol 116: 21–26.

ANEXOS

Anexo 1. Modelos de regresión para Fosfatasa ácida, Fosfatasa alcalina y Deshidrogenasas en función del tiempo para cada uno de los tratamientos evaluados, en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Actividad enzimática	Ecuación	R ²
Bagazo+Tr	Fosfatasa acida	$\mu\text{g PNP/gss} = 180.879 + 0.5767 * \text{DDA}$	0.594
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g PNP/gss} = 16.292 + 3.285 * \text{DDA} - 0.068 * \text{DDA}^2 + 0.0006 * \text{DDA}^3$	0.563
	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TPF/gss} = 63.205 - 3.090 * \text{DDA} + 0.0823 * \text{DDA}^2 - 0.0005 * \text{DDA}^3$	0.624
Bagazo	Fosfatasa acida	$\mu\text{g PNP/gss} = 141.484 + 1.015 * \text{DDA}$	0.878
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g PNP/gss} = 52.989 - 1.064 * \text{DDA} + 0.012 * \text{DDA}^2$	0.817
	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TPF/gss} = 46.079 - 0.140 * \text{DDA}$	0.604
Fosetyl-AI Dosis 1	Fosfatasa acida	$\mu\text{g PNP/gss} = 179.268 - 1.253 * \text{DDA} + 0.017 * \text{DDA}^2$	0.666
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g PNP/gss} = 28.299 + 0.202 * \text{DDA}$	0.727
	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TPF/gss} = 14.492 + 0.138 * \text{DDA}$	0.607
Fosetyl-AI Dosis 2	Fosfatasa acida	$\mu\text{g PNP/gss} = 138.148 + 0.592 * \text{DDA} - 0.004 * \text{DDA}^2$	0.543
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g PNP/gss} = 31.935 - 0.250 * \text{DDA}$	0.789
	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TPF/gss} = 10.295 + 0.123 * \text{DDA}$	0.498
Mefenoxam Dosis 1	Fosfatasa acida	$\mu\text{g PNP/gss} = 145.467 + 0.118 * \text{DDA}$	0.473
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g PNP/gss} = 18.632 + 0.174 * \text{DDA}$	0.612
	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TPF/gss} = 13.975 - 0.329 * \text{DDA} + 0.0041 * \text{DDA}^2$	0.836
Mefenoxam Dosis 2	Fosfatasa acida	$\mu\text{g PNP/gss} = 157.8 - 1.370 * \text{DDA} + 0.011 * \text{DDA}^2$	0.563
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g PNP/gss} = 20.360 + 0.208 * \text{DDA}$	0.807
	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TPF/gss} = 7.763 + 0.0264 * \text{DDA}$	0.515
Control	Fosfatasa acida	$\mu\text{g PNP/gss} = 163.918 - 0.163 * \text{DDA}$	0.481
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g PNP/gss} = 43.122 - 0.258 * \text{DDA} + 0.001 * \text{DDA}^2$	0.449
	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TPF/gss} = 32.487 - 0.438 * \text{DDA} + 0.004 * \text{DDA}^2$	0.663

DDA= Días después de la aplicación es la variable independiente (x)

Anexo 2. Análisis de varianza, coeficiente de correlación de Pearson y diferencias de medias según Tukey, para las actividades enzimáticas deshidrogenasa, fosfatasa ácida y alcalina a los 8,15, 45 Y 90 días después de aplicar los productos, en condiciones controladas.

Análisis de correlación de Pearson para fosfatasas ácida, alcalinas y deshidrogenasas, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 8 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento CORR						
3 Variables: Fac Falc Desh						
Desviación						
Variable	N	Media	típica	Suma	Mínimo	Máximo
Fac	35	158.32946	15.39597	5542	133.84900	194.63200
Falc	35	30.03509	8.49688	1051	17.00200	46.45600
Desh	35	24.93977	14.94310	872.89200	7.79200	53.37500
Coeficientes de correlación Pearson, N = 35						
Prob > r suponiendo H0: Rho=0						
	Fac	Falc	Desh			
Fac	1.00000	0.26015	0.49542			
		0.1312	0.0025			
Falc	0.26015	1.00000	0.73560			
		0.1312	<.0001			
Desh	0.49542	0.73560	1.00000			
		0.0025	<.0001			

Análisis de varianza para fosfatasas ácidas, en suelos tratados con fungicidas y enmiendas orgánicas 8 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM						
Información del nivel de clase						
Clase	Niveles	Valores				
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2	Mefe_d1 Mefe_d2 control
Número de observaciones 35						
Procedimiento GLM						

Variable dependiente: **ACTIVIDAD FOSFATASA ÁCIDA**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	5180.652577	863.442096	8.40	<.0001
Error	28	2878.572304	102.806154		
Total correcto	4	8059.224881			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Fac Media
0.642823	6.403949	10.13934	158.3295

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	5180.652577	863.442096	8.40	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	5180.652577	863.442096	8.40	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para actividad fosfatasas ácida en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 8 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fac

NOTA: Este test controla el índice de error experimental de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	28
Error de cuadrado medio	102.8062
Valor crítico del rango estudentizado	4.48607
Diferencia significativa mínima	20.342

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
--------------------	-------	---	------

A	174.639	5	Bag+Tr
A			
A	174.345	5	control
A			
B A	163.114	5	Fose_d1
B A			
B A C	157.220	5	Bagazo
B C			
B C	151.304	5	Mefe_d2
B C			
B C	147.032	5	Mefe_d1
C			
C	140.651	5	Fose_d2

Análisis de varianza para fosfatasas alcalinas, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 8 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM					
Información del nivel de clase					
Clase	Niveles	Valores			
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2 Mefe_d1 Mefe_d2 control
Número de observaciones 35					
Procedimiento GLM					
Variable dependiente: ACTIVIDAD FOSFATASA ALCALINA					
Suma de Cuadrado de					
Fuente	DF	cuadrados	la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	2008.624987	334.770831	21.01	<.0001
Error	28	446.070494	15.931089		
Total correcto	34	2454.695481			
R-cuadrado Coef Var Raiz MSE Falc Media					
	0.818279	13.28905	3.991377	30.03509	
Cuadrado de					
Fuente	DF	Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	2008.624987	334.770831	21.01	<.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	2008.624987	334.770831	21.01	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para Actividad fosfatasa alcalina en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 8 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM					
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Falc					
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.					
Alfa			0.05		
Error de grados de libertad				28	
Error de cuadrado medio				15.93109	
Valor crítico del rango estudentizado				4.48607	
Diferencia significativa mínima				8.0076	
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.					
Tukey Agrupamiento		Media	N	TRAT	
A	A	42.276	5	Bagazo	
	B A	37.326	5	Bag+Tr	
	B				
	B C	32.849	5	Fose_d2	
C	D C	29.255	5	Fose_d1	
	D C				
	D C	26.584	5	control	
	D				
	D E	23.647	5	Mefe_d1	
	E				
	E	18.310	5	Mefe_d2	

Análisis de varianza para deshidrogenasas, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 8 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Información del nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
TRAT	7	Bag+Tr Bagazo Fose_d1 Fose_d2 Mefe_d1 Mefe_d2 control

Número de observaciones 35

Procedimiento GLM

Información del nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
TRAT	7	Bag+Tr Bagazo Fose_d1 Fose_d2 Mefe_d1 Mefe_d2 control

Número de observaciones 35

Variable dependiente: **ACTIVIDAD DESHIDROGENASA**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	7335.493597	1222.582266	133.42	<.0001
Error	28	256.575009	9.163393		

Total correcto 34 7592.068606

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Desh Media
0.966205	12.13768	3.027110	24.93977

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	7335.493597	1222.582266	133.42	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	7335.493597	1222.582266	133.42	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para Actividad deshidrogenasa en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 8 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Desh

NOTA: Este test controla el índice de error experimental de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	28
Error de cuadrado medio	9.163393
Valor crítico del rango estudentizado	4.48607
Diferencia significativa mínima	6.0731

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	48.466	5	Bag+Tr
A			
A	43.049	5	Bagazo
B	29.620	5	control
C	16.029	5	Fose_d2
C			
D C	15.099	5	Fose_d1
D C			
D C	13.112	5	Mefe_d1
D			
D	9.203	5	Mefe_d2

Análisis de correlación de Pearson para fosfatasa ácida, alcalinas y deshidrogenasas, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 15 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento CORR						
3 Variables: Fac Falc Desh						
Estadísticos simples						
Variable	N	Desviación		Suma	Mínimo	Máximo
		Media	típica			
Fac	35	158.32946	15.39597	5542	133.84900	194.63200
Falc	35	30.03509	8.49688	1051	17.00200	46.45600
Desh	35	24.93977	14.94310	872.89200	7.79200	53.37500

Coeficientes de correlación Pearson, N = 35				
Prob > r suponiendo H0: Rho=0				
	Fac	Falc	Desh	
Fac	1.00000	0.26015 0.1312	0.49542 0.0025	
Falc	0.26015 0.1312	1.00000	0.73560 <.0001	
Desh	0.49542 0.0025	0.73560 <.0001	1.00000	

Análisis de varianza para fosfatasas acidas, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 15 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM					
Información del nivel de clase					
Clase	Niveles	Valores			
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2 Mefe_d1 Mefe_d2 control
Número de observaciones		35			
Variable dependiente: FOSFATASA ACIDA					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	5180.652577	863.442096	8.40	<.0001
Error	28	2878.572304	102.806154		
Total correcto	34	8059.224881			
R-cuadrado		Coef Var	Raiz MSE	Fac Media	
0.642823		6.403949	10.13934	158.3295	
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	5180.652577	863.442096	8.40	<.0001
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	5180.652577	863.442096	8.40	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para actividad fosfatasas ácida en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 15 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM				
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fac				
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.				
Alfa			0.05	
Error de grados de libertad			28	
Error de cuadrado medio			102.8062	
Valor crítico del rango estudentizado			4.48607	
Diferencia significativa mínima			20.342	
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.				
Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT	
A	174.639	5	Bag+Tr	
A				
A	174.345	5	control	
A				
B A	163.114	5	Fose_d1	
B A				
B A C	157.220	5	Bagazo	
B C				
B C	151.304	5	Mefe_d2	
B C				
B C	147.032	5	Mefe_d1	
C				
C	140.651	5	Fose_d2	

Análisis de varianza para fosfatasas alcalinas en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 15 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM							
Información del nivel de clase							
Clase	Niveles	Valores					
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2	Mefe_d1	Mefe_d2 control

Número de observaciones 35

Variable dependiente: **FOSFATASA ALCALINA**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	2008.624987	334.770831	21.01	<.0001
Error	28	446.070494	15.931089		
Total correcto	34	2454.695481			

R-cuadrado 0.818279
Coef Var 13.28905
Raiz MSE 3.991377
Falc Media 30.03509

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	2008.624987	334.770831	21.01	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	2008.624987	334.770831	21.01	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para actividad fosfatasas alcalina en suelos tratados con fungicidas y enmiendas orgánicas 15 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Falc

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa 0.05
Error de grados de libertad 28
Error de cuadrado medio 15.93109
Valor crítico del rango estudentizado 4.48607
Diferencia significativa mínima 8.0076

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

	Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	A	42.276	5	Bagazo
	B A	37.326	5	Bag+Tr
C	B B	32.849	5	Fose_d2
	D C	29.255	5	Fose_d1
	D C	26.584	5	control
	D C	26.584	5	control
	D E	23.647	5	Mefe_d1
	E E	18.310	5	Mefe_d2

Análisis de varianza para deshidrogenasas en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 15 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM						
Información del nivel de clase						
Clase	Niveles	Valores				
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2	Mefe_d1 Mefe_d2 control
Número de observaciones		35				
Variable dependiente: ACTIVIDAD DESHIDROGENASA						
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	
Modelo	6	7335.493597	1222.582266	133.42	<.0001	
Error	28	256.575009	9.163393			
Total correcto	34	7592.068606				
R-cuadrado		Coef Var	Raiz MSE	Desh Media		
0.966205		12.13768	3.027110	24.93977		
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F	

Análisis de correlación de Pearson para fosfatasa ácida, alcalina y deshidrogenasa, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 45 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento CORR						
3 Variables: Fac Falc Desh						
Estadísticos simples						
Variable	N	Desviación		Suma	Mínimo	Máximo
		Media	típica			
Fac	35	162.18691	32.21337	5677	103.19700	246.29800
Falc	35	29.02386	10.44076	1016	14.29300	47.22200
Desh	35	24.03743	14.22489	841.31000	7.30100	48.49300

Coeficientes de correlación Pearson, N = 35				
Prob > r suponiendo H0: Rho=0				
Fac	Falc	Desh		
	Fac	1.00000	0.38776	0.83631
			0.0214	<.0001
	Falc	0.38776	1.00000	0.50417
		0.0214		0.0020
	Desh	0.83631	0.50417	1.00000
	<.0001	0.0020		

Análisis de varianza para fosfatasa ácida, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 45 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM						
Información del nivel de clase						
Clase	Niveles	Valores				
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2	Mefe_d1 Mefe_d2 control
Número de observaciones		35				
Procedimiento GLM						

Variable dependiente: **ACTIVIDAD FOSFATASA ACIDA**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	30460.81819	5076.80303	29.49	<.0001
Error	28	4821.02337	172.17941		
Total correcto	34	35281.84156			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Fac Media
0.863357	8.090489	13.12172	162.1869

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	30460.81819	5076.80303	29.49	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	30460.81819	5076.80303	29.49	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para actividad fosfatasa ácida en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 45 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fac

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	28
Error de cuadrado medio	172.1794
Valor crítico del rango estudentizado	4.48607
Diferencia significativa mínima	26.325

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	220.617	5	Bag+Tr
B	183.604	5	Bagazo

	B			
C	B	159.410	5	control
C				
C		154.449	5	Fose_d1
C				
C		154.432	5	Fose_d2
C				
C	D	141.293	5	Mefe_d1
D				
D		121.504	5	Mefe_d2

Análisis de varianza para fosfatasas alcalina, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 45 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM					
Información del nivel de clase					
Clase	Niveles	Valores			
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2 Mefe_d1 Mefe_d2 control
Número de observaciones		35			
Procedimiento GLM					
Variable dependiente: FOSFATASA ALCALINA					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	3439.160091	573.193349	60.07	<.0001
Error	28	267.164707	9.541597		
Total correcto	34	3706.324798			
R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Falc Media		
0.927917	10.64279	3.088948	29.02386		
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	3439.160091	573.193349	60.07	<.0001
Cuadrado de					

Fuente	DF	Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	3439.160091	573.193349	60.07	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para actividad fosfatasa alcalina en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 45 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM			
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Falc			
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.			
Alfa		0.05	
Error de grados de libertad		28	
Error de cuadrado medio		9.541597	
Valor crítico del rango estudentizado		4.48607	
Diferencia significativa mínima		6.1972	
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	43.367	5	Bag+Tr
A			
A	42.076	5	Fose_d1
B	32.026	5	Mefe_d2
B			
B	28.443	5	Bagazo
C	20.210	5	Mefe_d1
C			
C	19.957	5	control
C			
C	17.087	5	Fose_d2

Análisis de varianza para actividad deshidrogenasa, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 45 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM					
Información del nivel de clase					
Clase	Niveles	Valores			
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2 Mefe_d1 Mefe_d2 control
Número de observaciones		35			
Procedimiento GLM					
Variable dependiente: ACTIVIDAD DESHIDROGENASA					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	6745.283095	1124.213849	233.99	<.0001
Error	28	134.529836	4.804637		
Total correcto	34	6879.812931			
R-cuadrado		Coef Var	Raiz MSE	Desh Media	
0.980446		9.118896	2.191948	24.03743	
Fuente	DF	Cuadrado de		F-Valor	Pr > F
		Tipo I SS	la media		
TRAT	6	6745.283095	1124.213849	233.99	<.0001
Fuente	DF	Cuadrado de		F-Valor	Pr > F
		Tipo III SS	la media		
TRAT	6	6745.283095	1124.213849	233.99	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para actividad deshidrogenasa en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 45 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Desh

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	28
Error de cuadrado medio	4.804637
Valor crítico del rango estudentizado	4.48607
Diferencia significativa mínima	4.3976

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

	Tukey	Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	A	44.521	5	Bagazo	
	A	43.865	5	Bag+Tr	
B	B	24.576	5	Fose_d1	
	B	21.988	5	control	
	C	15.520	5	Fose_d2	
	D	9.533	5	Mefe_d2	
	D	8.260	5	Mefe_d1	

Análisis de correlación de Pearson para fosfatasas ácida, alcalinas y deshidrogenasas, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 90 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento CORR						
3 Variables: Fac Falc Desh						
Estadísticos simples						
Variable	N	Desviación		Suma	Mínimo	Máximo
		Media	típica			
Fac	35	179.91223	40.03602	6297	121.85500	244.59500
Falc	35	42.68483	17.66311	1494	10.53500	75.52100
Desh	35	25.09829	9.69665	878.44000	8.35800	46.55300

Coeficientes de correlación Pearson, N = 35				
Prob > r suponiendo H0: Rho=0				
Fac	Falc	Desh		
	Fac	1.00000	0.67147	0.77118
			<.0001	<.0001
	Falc	0.67147	1.00000	0.32149
		<.0001		0.0597
	Desh	0.77118	0.32149	1.00000
		<.0001	0.0597	

Análisis de varianza para fosfatasas ácidas, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 90 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM								
Información del nivel de clase								
Clase	Niveles	Valores						
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2	Mefe_d1	Mefe_d2	control
Número de observaciones							35	
Procedimiento GLM								
Variable dependiente: FOSFATASA ACIDA								

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	52195.36509	8699.22752	105.78	<.0001
Error	28	2302.64260	82.23724		
Total correcto	34	54498.00769			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Fac Media
0.957748	5.040499	9.068475	179.9122

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	52195.36509	8699.22752	105.78	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	52195.36509	8699.22752	105.78	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para actividad fosfatasa ácida en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 90 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fac

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	28
Error de cuadrado medio	82.23724
Valor crítico del rango estudentizado	4.48607
Diferencia significativa mínima	18.193

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	235.284	5	Bagazo
A	226.256	5	Bag+Tr
B	205.616	5	Fose_d1

C	158.904	5	control
C			
C	153.752	5	Mefe_d1
C			
C	150.245	5	Fose_d2
D	129.328	5	Mefe_d2

Análisis de varianza para fosfatasa alcalinas, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 90 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM								
Información del nivel de clase								
Clase	Niveles	Valores						
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2	Mefe_d1	Mefe_d2	control
Número de observaciones		35						
Procedimiento GLM								
Variable dependiente: FOSFATASA ALCALINA								
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F			
Modelo	6	10213.79979	1702.29997	121.07	<.0001			
Error	28	393.70308	14.06082					
Total correcto	34	10607.50287						
R-cuadrado		Coef Var	Raiz MSE	Falc Media				
0.962884		8.784799	3.749777	42.68483				
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F			
TRAT	6	10213.79979	1702.29997	121.07	<.0001			
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F			
TRAT	6	10213.79979	1702.29997	121.07	<.0001			

Diferencias de Medias según Tukey para actividad fosfatasa alcalina en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 90 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Falc

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	28
Error de cuadrado medio	14.06082
Valor crítico del rango estudentizado	4.48607
Diferencia significativa mínima	7.5229

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento		Media	N	TRAT
	A	69.840	5	Fose_d1
B	55.924	5	Bagazo	
	B	49.669	5	Bag+Tr
C	37.856	5	Mefe_d2	
	C	37.233	5	control
	C	37.178	5	Mefe_d1
	D	11.095	5	Fose_d2

Análisis de varianza para actividad deshidrogenasa, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 90 días después de establecido el experimento en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Información del nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
TRAT	7	Bag+Tr Bagazo Fose_d1 Fose_d2 Mefe_d1 Mefe_d2 control

Número de observaciones 35

Procedimiento GLM

Variable dependiente: **ACTIVIDAD DESHIDROGENASA**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	3043.278280	507.213047	92.48	<.0001
Error	28	153.570297	5.484653		
Total correcto	34	3196.848577			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Desh Media
0.951962	9.331050	2.341934	25.09829

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	3043.278280	507.213047	92.48	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRAT	6	3043.278280	507.213047	92.48	<.0001

Diferencias de Medias según Tukey para actividad fosfatasa alcalina en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña 90 días después de la aplicación de los productos en condiciones de laboratorio

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Desh

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	28
Error de cuadrado medio	5.484653
Valor crítico del rango estudentizado	4.48607
Diferencia significativa mínima	4.6985

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	40.475	5	Bag+Tr
B	31.323	5	Bagazo
B			
C B	29.359	5	control
C			
C D	25.390	5	Fose_d1
D			
E D	21.965	5	Fose_d2
E			
E	18.083	5	Mefe_d1
F	9.092	5	Mefe_d2

ANEXO 3. Análisis de varianza para Fosfatasa Acida, Alcalina y deshidrogenasa, en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña. Experimento en condiciones de campo

Análisis de correlación de Pearson para fosfatasas (ácida y alcalina) y deshidrogenasa en suelos tratados con fungicidas y bagazo de caña, en condiciones experimentales de campo.

Procedimiento CORR						
3 Variables: Fac Falc Desh						
Estadísticos simples						
Variable	N	Desviación		Suma	Mínimo	Máximo
		Media	típica			
Fac	28	252.91236	30.69161	7082	194.90100	308.58400
Falc	28	117.70032	25.89762	3296	76.43600	175.98900
Desh	28	145.07921	52.01331	4062	40.58800	223.60000
Coeficientes de correlación Pearson, N = 28						
Prob > r suponiendo H0: Rho=0						
	Fac	Falc	Desh			
Fac	1.00000	0.22278	0.81938			
		0.2545	<.0001			
Falc	0.22278	1.00000	0.19043			
	0.2545		0.3317			
Desh	0.81938	0.19043	1.00000			
	<.0001	0.3317				
				EXPERIMENTO	BLOQUES	COMPLETAMENTE AL AZAR
2	ANAVA para fosfatasa acida fosfatasa alcalina y deshidrogenasa en suelo lectura a los 15 dias despues de aplicados los tratamientos					
14:16 Friday, April 23, 2013						

Análisis de varianza y diferencia de medias para fosfatasa ácida 15 días después de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña, en condiciones de campo.

Procedimiento GLM						
Información del nivel de clase						
Clase	Niveles	Valores				
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2	Mefe_d1 Mefe_d2 control
BLOQUE	4	1	2	3	4	
Número de observaciones 29						
Procedimiento GLM						
Variable dependiente: Fac						
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	
Modelo	9	23554.12939	2617.12549	25.07	<.0001	
Error	18	1879.19223	104.39957			
Total correcto	27	25433.32161				
R-cuadrado Coef Var Raiz MSE Fac Media						
0.926113 4.039981 10.21761 252.9124						
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	
BLOQUE	3	1728.17861	576.05954	5.52	0.0072	
TRAT	6	21825.95078	3637.65846	34.84	<.0001	
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	
BLOQUE	3	1728.17861	576.05954	5.52	0.0072	
TRAT	6	21825.95078	3637.65846	34.84	<.0001	
Procedimiento GLM						
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fac						
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.						

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	18
Error de cuadrado medio	104.3996
Valor crítico del rango estudentizado	4.67313
Diferencia significativa mínima	23.874

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	293.998	4	Bag+Tr
A			
B A	280.283	4	Bagazo
B			
B C	262.036	4	control
C			
C	254.923	4	Fose_d1
C			
D C	246.918	4	Fose_d2
D			
D E	225.812	4	Mefe_d2
E			
E	206.418	4	Mefe_d1

Análisis de varianza y diferencia de medias para fosfatasa alcalina 15 días después de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña, en condiciones de campo.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: Falc

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	9	16660.57391	1851.17488	23.01	<.0001
Error	18	1447.97301	80.44294		
Total correcto	27	18108.54692			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Falc Media
0.920039	7.620199	8.968999	117.7003

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
BLOQUE	3	556.23212	185.41071	2.30	0.1113
TRAT	6	16104.34179	2684.05696	33.37	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	la media	F-Valor	Pr > F
BLOQUE	3	556.23212	185.41071	2.30	0.1113
TRAT	6	16104.34179	2684.05696	33.37	<.0001

7

EXPERIMENTO BLOQUES COMPLETAMENTE AL AZAR

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Falc

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa 0.05
 Error de grados de libertad 18
 Error de cuadrado medio 80.44294
 Valor crítico del rango estudentizado 4.67313
 Diferencia significativa mínima 20.957

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	161.963	4	Bag+Tr
B	134.474	4	Mefe_d1
B			
C B	123.647	4	Fose_d1
C			
C D	111.820	4	Bagazo
C D			
C D	110.746	4	Mefe_d2
D			
E D	100.660	4	Fose_d2
E			
E	80.594	4	control

Análisis de varianza y diferencia de medias para actividad deshidrogenasa 15 días después de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña, en condiciones de campo.

Procedimiento GLM					
Información del nivel de clase					
Clase	Niveles	Valores			
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2 Mefe_d1 Mefe_d2 control
BLOQUE	4	1	2	3	4
Número de observaciones 29					
NOTA: Due to missing values, only 28 observations can be used in this analysis.					
3	EXPERIMENTO	BLOQUES	COMPLETAMENTE	AL	AZAR
ANAVA para fosfatasa acida fosfatasa alcalina y deshidrogenasa en suelo lectura a los 15 dias despues de aplicados los tratamientos 14:16 Friday, April 23, 2013					
Procedimiento GLM					
Variable dependiente: Fac					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	9	23554.12939	2617.12549	25.07	<.0001
Error	18	1879.19223	104.39957		
Total correcto	27	25433.32161			
R-cuadrado Coef Var Raiz MSE Fac Media					
0.926113 4.039981 10.21761 252.9124					
Fuente	DF	Cuadrado de		F-Valor	Pr > F
		Tipo I SS	la media		
BLOQUE	3	1728.17861	576.05954	5.52	0.0072
TRAT	6	21825.95078	3637.65846	34.84	<.0001
Fuente	DF	Cuadrado de		F-Valor	Pr > F
		Tipo III SS	la media		
BLOQUE	3	1728.17861	576.05954	5.52	0.0072
TRAT	6	21825.95078	3637.65846	34.84	<.0001

4

ANAVA para fosfatasa acida fosfatasa alcalina y deshidrogenasa en suelo
lectura a los 15 dias despues de aplicados los tratamientos
14:16 Friday, April 23, 2013

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fac

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	18
Error de cuadrado medio	104.3996
Valor crítico del rango estudentizado	4.67313
Diferencia significativa mínima	23.874

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	293.998	4	Bag+Tr
A			
B A	280.283	4	Bagazo
B			
B C	262.036	4	control
C			
C	254.923	4	Fose_d1
C			
D C	246.918	4	Fose_d2
D			
D E	225.812	4	Mefe_d2
E			
E	206.418	4	Mefe_d1

Análisis de varianza y diferencia de medias para actividad fosfatasa ácida 360 días después de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña, en condiciones de campo.

Procedimiento GLM						
Información del nivel de clase						
Clase	Niveles	Valores				
TRAT	7	Bag+Tr	Bagazo	Fose_d1	Fose_d2	Mefe_d1 Mefe_d2 control
BLOQUE	4	1	2	3	4	
Número de observaciones 28						
3	EXPERIMENTO	BLOQUES	COMPLETAMENTE	AL	AZAR	
ANAVA para fosfatasa acida fosfatasa alcalina y deshidrogenasa en suelo lectura a los 360 dias despues de aplicados los tratamientos 14:30 Friday, April 23, 2013						
Procedimiento GLM						
Variable dependiente: Fac						
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	
Modelo	9	101834.5055	11314.9451	29.11	<.0001	
Error	18	6996.5865	388.6993			
Total correcto	27	108831.0920				
R-cuadrado Coef Var Raiz MSE Fac Media						
0.935712 8.878027 19.71546 222.0703						
Fuente	DF	Cuadrado de		F-Valor	Pr > F	
BLOQUE	3	Tipo I SS	la media			
TRAT	6	846.0185	282.0062	0.73	0.5499	
		100988.4870	16831.4145	43.30	<.0001	
Fuente	DF	Cuadrado de		F-Valor	Pr > F	
BLOQUE	3	Tipo III SS	la media			
TRAT	6	846.0185	282.0062	0.73	0.5499	
		100988.4870	16831.4145	43.30	<.0001	
4	EXPERIMENTO	BLOQUES	COMPLETAMENTE	AL	AZAR	
ANAVA para fosfatasa acida fosfatasa alcalina y deshidrogenasa en suelo lectura a los 360 dias despues de aplicados los tratamientos 14:30 Friday, April 23, 2013						

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Fac

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	18
Error de cuadrado medio	388.6993
Valor crítico del rango estudentizado	4.67313
Diferencia significativa mínima	46.066

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	309.75	4	Bag+Tr
A			
B A	275.50	4	Bagazo
B			
B	251.49	4	Mefe_d1
B			
B	244.65	4	control
C	180.16	4	Fose_d2
C			
C	154.91	4	Mefe_d2
C			
C	138.03	4	Fose_d1

Análisis de varianza y diferencia de medias para actividad fosfatasa alcalina 360 días después de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña, en condiciones de campo.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: Falc					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	9	6451.706640	716.856293	13.71	<.0001
Error	18	941.236434	52.290913		
Total correcto	27	7392.943074			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Falc Media	
	0.872684	9.577437	7.231246	75.50293	
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
BLOQUE	3	290.129626	96.709875	1.85	0.1744
TRAT	6	6161.577014	1026.929502	19.64	<.0001
Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
BLOQUE	3	290.129626	96.709875	1.85	0.1744
TRAT	6	6161.577014	1026.929502	19.64	<.0001
7 EXPERIMENTO BLOQUES COMPLETAMENTE AL AZAR					
ANAVA para fosfatasa acida fosfatasa alcalina y deshidrogenasa en suelo lectura a los 360 dias despues de aplicados los tratamientos 14:30 Friday, April 23, 2013					
Procedimiento GLM					
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Falc					
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.					
Alfa	0.05				
Error de grados de libertad	18				
Error de cuadrado medio	52.29091				
Valor crítico del rango estudentizado	4.67313				
Diferencia significativa mínima	16.896				

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	102.685	4	Bagazo
B	84.060	4	Fose_d1
B	79.676	4	Mefe_d2
B	76.348	4	Bag+Tr
C B	72.090	4	Mefe_d1
C	57.632	4	Fose_d2
C	56.031	4	control

Análisis de varianza y diferencia de medias para actividad deshidrogenasa 360 días después de la aplicación de fungicidas y bagazo de caña, en condiciones de campo.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: Desh

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	9	29791.47530	3310.16392	33.73	<.0001
Error	18	1766.67847	98.14880		
Total correcto	27	31558.15377			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Desh Media
0.944018	12.55313	9.907008	78.92061

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
BLOQUE	3	152.29824	50.76608	0.52	0.6757
TRAT	6	29639.17707	4939.86284	50.33	<.0001

Fuente	DF	Cuadrado de Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
BLOQUE	3	152.29824	50.76608	0.52	0.6757
TRAT	6	29639.17707	4939.86284	50.33	<.0001

EXPERIMENTO BLOQUES COMPLETAMENTE AL AZAR

ANAVA para fosfatasa acida fosfatasa alcalina y deshidrogenasa en suelo
lectura a los 360 días despues de aplicados los tratamientos
14:30 Friday, April 23, 2013

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Desh

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un

índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	18
Error de cuadrado medio	98.1488
Valor crítico del rango estudentizado	4.67313
Diferencia significativa mínima	23.148

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	136.611	4	Bag+Tr
B	108.083	4	Bagazo
B			
C B	92.790	4	control
C			
C	72.840	4	Fose_d2
D	49.479	4	Mefe_d2
D			
D	48.506	4	Mefe_d1
D			
D	44.136	4	Fose_d1