

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE UN
INDICADOR BIOQUÍMICO DE LA CALIDAD DEL SUELO**

CAMILO ANDRES ARBOLEDA PARDO

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2010**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE UN INDICADOR
BIOQUÍMICO DE LA CALIDAD DEL SUELO**

CAMILO ANDRES ARBOLEDA PARDO

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial
para optar el título de Químico**

DIRECTOR

M. Sc. ISABEL BRAVO REALPE

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2010**

Nota de Aceptación

Director

M.Sc ISABEL BRAVO REALPE

Jurado

M.Sc MAYRA ARRIETA

Jurado

M.Sc IVAN PAZ

Fecha de sustentación: Popayán, 6 de Abril de 2010

AGRADECIMIENTOS

*A Dios por ser el guía, la luz reconfortante en muchos momentos de debilidad.
A mi madre Marleny Pardo por su inmenso amor, comprensión, apoyo, respaldo y por
creer en mí.*

*A mi hermano Juan Gabriel por su cariño incondicional, sus consejos y su amistad.
A Viviana por su amor, comprensión y apoyo.*

*Estoy profundamente agradecido con mi Directora, Isabel Bravo, por su paciencia,
apoyo, dirección, entrega, amistad y cariño.*

Al profesor Fabio Cabezas por toda la ayuda brindada.

*A cada uno de mis profesores que ayudaron en mi formación tanto académica como
personal.*

*A mis compañeros del grupo de Agroquímica: Diana Cardona, Marcela Suarez, Libardo
Ante, Harold Gomez, Adrian Campo, Anderson Hoyos, William Velasco, quienes
siempre estuvieron dispuestos a colaborar en el grupo.*

*A mis compañeros de carrera por la amistad que me brindaron: Sebastián Salinas,
Cristian Miranda, Mónica Carvajal, Edison Bravo, gracias por su compañerismo, su
lealtad y por estar siempre cuando más los necesité. Y a todas las personas que creyeron
en mí...*

TABLA DE CONTENIDO

	RESUMEN	14
1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
2.	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GENERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3.	FUNDAMENTO TEÓRICO	17
3.1	SUELOS ANDISOLES	17
3.2	FERTILIDAD DEL SUELO	18
3.3	IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS COMO INDICADORES DE LA CALIDAD DEL SUELO	19
3.3.1	Indicadores biológicos y bioquímicos	22
3.4	MATERIA ORGANICA DEL SUELO	24
3.4.1	Efectos de la materia orgánica sobre las características físicas, químicas y biológicas.	24
3.4.1.1	Características físicas	24
3.4.1.2	Características químicas	25
3.4.1.3	Características biológicas	26
3.5	EL FÓSFORO	28
3.5.1	Formas de fósforo en el suelo	28
3.5.1.1	Fósforo inorgánico	28
3.5.1.2	Fósforo orgánico	30
3.6	MINERALIZACIÓN DEL FÓSFORO ORGÁNICO	33
3.7	IMPORTANCIA DE LAS ENZIMAS DEL SUELO	35
3.8	MEDIDAS DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS	36

3.9	FOSFATASA ÁCIDA	37
3.9.1	Factores que influyen en la actividad de la fosfatasa del suelo	38
3.10	ENCALADO DEL SUELO	38
4.	METODOLOGÍA	40
4.1	UBICACIÓN GEOGRÁFICA	40
4.2	TOMA DE MUESTRAS	41
4.3	CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL SUELO	41
4.3.1	Análisis Físicos	41
4.3.1.1	Humedad	41
4.3.1.2	Textura	41
4.3.1.3	Densidad por el método del cilindro	42
4.3.2	Análisis Químicos	42
4.3.2.1	pH	42
4.3.2.2	Acidez intercambiable	42
4.3.2.3	Materia orgánica	42
4.3.2.4	Determinación de nitrógeno por el método de Kjeldahl	43
4.3.2.5	Determinación de fósforo disponible	44
4.3.2.6	Determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC)	44
4.3.2.7	Determinación de bases intercambiables	44
4.3.2.8	Determinación de microelementos	44
4.3.2.9	Evaluación del requerimiento de cal	45
4.4	ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA EN UN ANDISOL CAUCANO	45
4.5	EVALUACIÓN DEL FÓSFORO DISPONIBLE, ORGÁNICO Y TOTAL	47
4.5.1	Fósforo Disponible	47
4.5.2	Fósforo Orgánico	47
4.5.3	Fósforo Total	48
4.6	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA	48

5.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	49
5.1	ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL SUELO	49
5.2	REQUERIMIENTO DE CAL	53
5.3	ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO COLORIMÉTRICO UTILIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA	54
5.3.1	Validación del sistema instrumental	54
5.3.1.1	Selección de la longitud de onda de máxima absorbancia	54
5.3.1.2	Preparación de la curva de calibración	55
5.3.1.3	Linealidad instrumental	55
5.3.1.4	Precisión	59
5.3.1.5	Exactitud	60
5.3.1.6	Límites críticos	61
5.4	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA COMO INDICADOR DE LA CALIDAD DE UN ANDISOL	62
5.5	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE ALGUNOS PARÁMETROS QUÍMICOS DEL SUELO	65
5.5.1	Efecto del encalamiento sobre el valor del pH en función del tiempo	65
5.5.2	Efecto del encalamiento sobre el valor del P disponible en función del tiempo	67
5.5.3	Efecto del encalamiento sobre el valor del P orgánico en función del tiempo	70
5.5.4	Efecto del encalamiento sobre el valor del P total en función del tiempo	72
5.6	CORRELACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA CON OTROS PARÁMETROS	73
6.	CONCLUSIONES	76
	BIBLIOGRAFÍA	78

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Principales formas de fosfato inorgánico	29
Tabla 2. Análisis Físicos y Químicos del suelo	50
Tabla 3. Dosis de las cales determinadas mediante el requerimiento de cal	54
Tabla 4. Preparación de la curva de calibración de p-nitrofenol	55
Tabla 5. Resultados para la evaluación de linealidad instrumental	56
Tabla 6. Prueba de la normalidad para los resultados de la linealidad instrumental	56
Tabla 7. Evaluación de la linealidad instrumental	57
Tabla 8. Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Pearson	58
Tabla 9. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto	58
Tabla 10. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración	59
Tabla 11. Repetibilidad del método colorimétrico	59
Tabla 12. Precisión intermedia del método colorimétrico	60
Tabla 13. Exactitud del método colorimétrico empleado para la determinación de la Fosfatasa ácida	60
Tabla 14. Límites críticos del método colorimétrico empleado para la determinación de la Fosfatasa ácida	61

Tabla 15. Efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida	62
Tabla 16. Prueba de Duncan para la actividad de la Fosfatasa ácida	65
Tabla 17. Efecto del encalamiento sobre el pH	66
Tabla 18. Prueba de Duncan para el pH	67
Tabla 19. Efecto del encalamiento sobre el fósforo disponible	68
Tabla 20. Prueba de Duncan para el fósforo disponible	69
Tabla 21. Efecto del encalamiento sobre el fósforo orgánico	70
Tabla 22. Prueba de Duncan para fósforo orgánico	71
Tabla 23. Efecto del encalamiento sobre el fósforo total	72
Tabla 24. Prueba de Duncan para fósforo total	73
Tabla 25. Correlaciones de Pearson	74

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Estructura del hexafosfato de inositol	31
Figura 2. Representación de los ácidos nucleicos	31
Figura 3. Fórmula general de los fosfolípidos	32
Figura 4. Estructura de la Lecitina	32
Figura 5. Proceso de mineralización e inmovilización del fósforo	33
Figura 6. Ubicación geográfica del sitio de muestreo	40
Figura 7. Reacción enzimática para la determinación de la actividad de la Fosfatasa ácida	45
Figura 8. Diagrama del proceso de extracción para la determinación de la Fosfatasa ácida.	46
Figura 9. Diagrama del proceso para la determinación de fósforo orgánico	47
Figura 10. Diagrama del proceso para la determinación de fósforo total	48
Figura 11. Diagrama de diseño experimental para evaluar el efecto del enclamiento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida.	49
Figura 12. Reacción del aluminio con los grupos carboxílicos y fenólicos del humus	52
Figura 13. Curva de requerimiento de cal del suelo	53
Figura 14: Espectro de absorción del patrón de p-nitrofenol (5 mg /L).	54

Figura 15. Curva de calibración de p-nitrofenol	57
Figura 16. Efecto del enclamiento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida en función del tiempo.	63
Figura 17. Efecto del enclamiento sobre el pH en función del tiempo	66
Figura 18. Efecto del enclamiento sobre el valor del P disponible en función del tiempo	68
Figura 19. Efecto del enclamiento sobre el valor del P orgánico en función del tiempo	71
Figura 20. Efecto del enclamiento sobre el valor del P total en función del tiempo	72

LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO 1 Parámetros de comparación para niveles de fertilidad en suelos de clima medio (SCCS 2000)	83
ANEXO 2. Análisis estadístico	84

ACRONIMOS

%C.V.	Porcentaje de coeficiente de varianza
%R	Porcentaje de recuperación
AFA	Actividad de la Fosfatasa ácida
B	Boro
Al	Aluminio
C	Carbono
Ca	Calcio
CIC	Capacidad de Intercambio de Cationes
Cl	Cloro
Cu	Cobre
C/N	Relación Carbono/Nitrógeno
C/P	Relación Carbono/Fósforo
Fe	Hierro
K	Potasio
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
MO	Materia Orgánica
MOS	Materia Orgánica del suelo
N	Nitrógeno
O	Oxígeno
P	Fósforo
p-NF	para-nitrofenol
S	Azufre
Zn	Zinc

RESUMEN

Las enzimas del suelo son ampliamente usadas como indicadores de la actividad biológica. De las numerosas enzimas que han sido detectadas en el suelo, el grupo de las fosfatasas ha recibido una atención considerable. Estas enzimas hidrolizan los compuestos orgánicos del fósforo, pirofosfatos, metafosfatos y polifosfatos presentes en el suelo. El interés sobre las mismas se debe a la importancia del fósforo en la nutrición de las plantas.

Los Andisoles caucanos caracterizados por la alta acidez presentan fuerte deficiencia en el fósforo disponible, lo que ha llevado a la aplicación de cales para generar una mejor producción, sin embargo, este proceso se ha realizado de una forma inadecuada alterando las características físicas, químicas y biológicas del suelo. No se conoce el efecto que pueden tener estas prácticas sobre las propiedades o indicadores bioquímicos como la Fosfatasa ácida, enzima muy importante en la mineralización del P orgánico en este tipo de suelos, propósito por el cual se realizó el presente trabajo.

La fase experimental se llevó a cabo en el laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca. Se tomaron muestras de suelo de una finca ubicada en la vereda "La Aurelia" del municipio de Cajibío en el departamento del Cauca, evaluando el efecto del encalado con dos tipos de cal (Cal Agrícola y Cal Dolomita) sobre la actividad de la Fosfatasa ácida, el contenido de fósforo disponible, fósforo orgánico y fósforo total.

La actividad de la Fosfatasa ácida se determinó de acuerdo al método descrito por Tabatabai (1994) ^[1], empleando como sustrato p-nitrofenilfosfato 0.05M a pH 6.5. Se realizaron modificaciones en el método como: la concentración del hidróxido de sodio, del cloruro de calcio y el tiempo de incubación. Se logró su estandarización, encontrando que es un método lineal, preciso y exacto.

Se utilizó un diseño experimental factorial de bloques, con dos fuentes de cal y con dos niveles, con cuatro períodos de incubación y tres réplicas por tratamiento, incluyendo un testigo absoluto (suelo sin cal), para un total de 60 tratamientos. Además se evaluaron otras propiedades del suelo. Se encontró que el encalamiento produce incremento en la AFA independientemente del tipo de cal hasta alcanzar un rango de pH óptimo comprendido entre 5.7 y 6.4, por encima y por debajo de la cual empieza a descender. Se mostró que dicho efecto se atribuye al mejoramiento de las condiciones químicas del suelo. También que el incremento en dicha actividad produce incremento en el P disponible y disminución del P orgánico en función del tiempo.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El fósforo (P) en el suelo se encuentra en forma orgánica y en forma inorgánica, predominando la primera fracción, a partir de la cual por mineralización se libera el P disponible para las plantas. Su mineralización es catalizada por enzimas fosfatasas que hidrolizan compuestos como ésteres de fosfato a fosfato inorgánico y son producidas por los microorganismos del suelo. Su actividad está sujeta a la influencia de varios factores principalmente el pH, debido a su gran sensibilidad a cambios fuertes, produciendo cambios químicos y conformacionales en la estructura de las proteínas. Además el pH también puede afectar la actividad de las enzimas por influencia en la concentración de activadores e inhibidores en la solución del suelo y en la concentración efectiva del sustrato. De igual forma, la adición de fuentes de P soluble al suelo afecta la actividad de la Fosfatasa ácida, impidiendo de esta manera la mineralización de compuestos orgánicos y generando la acumulación de grandes capas de materia orgánica en el suelo con la consecuente producción de más acidez [2],[3],[4],[5].

La deficiencia de P disponible en Andisoles Caucanos ha sido ampliamente detectada y es causada generalmente por la acidez muy fuerte de estos suelos, en donde el P sufre diferentes procesos de adsorción. Para suplir tal deficiencia, los agricultores se limitan a la aplicación de altas y repetidas dosis de fertilizantes y al enclamiento progresivo y continuo, volviéndose insostenible la producción, generando contaminación a las diferentes fases ambientales, alterando las condiciones normales de estos suelos y afectando su actividad microbiana [6],[7].

No se conocen estudios en este tipo de suelos que muestren la relación entre la actividad de la Fosfatasa ácida y la disponibilidad de P, ni el efecto que produce el enclamiento sobre la actividad de dicha enzima, teniendo en cuenta que esta práctica es muy usual en nuestra región, altera las propiedades del suelo y por ende su actividad microbiológica y enzimática. Además, la actividad enzimática es una de las numerosas formas de medir la calidad del suelo y el valor bioindicativo de la Actividad de la Fosfatasa ácida puede servir como un índice de susceptibilidad a factores de estrés.

Con base en las anteriores consideraciones se plantean las siguientes hipótesis de trabajo:

1. La actividad de la Fosfatasa ácida en Andisoles del Cauca fuertemente ácidos es alta y está correlacionada con el fosforo disponible.
2. El enclamiento afecta la actividad de la Fosfatasa ácida, la disponibilidad del P y el contenido de P.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el efecto del encalamiento con dos tipos de cal sobre la actividad de la Fosfatasa ácida (E.C. 3.1.3.2), sobre el contenido de fósforo disponible y fósforo orgánico en muestras de un Andisol del departamento del Cauca.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Caracterizar física y químicamente el Andisol proveniente de la Finca Santa Rosa, Vereda La Aurelia, Municipio de Cajibío Departamento del Cauca.
- Estandarizar un método colorimétrico para la determinación de la actividad de la Fosfatasa ácida en el Andisol bajo estudio.
- Evaluar el requerimiento de cal del suelo bajo estudio, necesario para ajustar su pH a un valor óptimo de fertilidad.
- Evaluar el efecto de dos tipos de cal sobre la actividad de la Fosfatasa ácida del suelo.
- Evaluar la correlación entre la actividad de la Fosfatasa ácida del suelo con el P disponible y el P orgánico del suelo, a diferentes valores de pH.

3. FUNDAMENTO TEÓRICO

3.1 SUELOS ANDISOLES

Los Andisoles son suelos con propiedades que dependen principalmente de la presencia de cantidades significativas de los materiales; alofán, ferrihidrita, o complejos aluminio-humus en los suelos y se desarrollan a partir de una amplia gama de depósitos de cenizas volcánicas [8].

Estos materiales denominados originalmente amorfos, se forman durante el intemperismo y desgaste de los materiales parentales, procesos dominantes en estos suelos, con un volumen significativo de vidrio, aunque el vidrio volcánico es un componente común en muchos Andisoles no es un requisito del orden andisol. Las translocaciones y acumulaciones de los compuestos translocados generalmente son mínimos, sin embargo, puede producirse migración de la materia orgánica quelatada con aluminio, bajo condiciones determinadas por la naturaleza de las sustancias humicas y del componente mineral [8].

Los suelos que presentan propiedades ándicas deben contener menos del 25% de carbono orgánico, además de un alto porcentaje de Al y Fe total, una densidad igual o menor a 0.9 g/cm^3 , un 85% o más de retención de fósforo. Estos suelos presentan estructuras bien definidas, alto porcentaje de retención de humedad, baja densidad aparente, pH ácido, baja relación $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, alta capacidad de intercambio catiónico dependiente del pH, bajo porcentaje de saturación de cationes intercambiables. Además presentan altos contenidos de materia orgánica en diferentes grados de humificación, en directa relación con la pluviometría y temperatura propia de cada zona [8]. Una de las características más importantes y a la vez la principal limitante de los Andisoles es su incapacidad para inmovilizar (fijar) fósforo en la superficie de los minerales amorfos, sin embargo, la capacidad de fijación de fósforo varía con el tipo de arcilla presente, condición que a su vez, parece estar determinada por la altura a la cual se encuentran los depósitos de ceniza que formaron el suelo [9].

Estos suelos, fundamentalmente consisten en un horizonte A pardo oscuro a negro, de 30 cm aproximadamente de espesor, estructura grumosa y granular fina, con un contenido de materiales orgánicos hasta del 30 % en los miembros más oscuros del grupo.

En Colombia, los Andisoles están ampliamente distribuidos en la región andina del país, especialmente en la cordillera central, aunque en las cordilleras occidental y oriental se presentan en menor proporción.

3.2 FERTILIDAD DEL SUELO.

El suelo es un sistema vivo, dinámico y no renovable, cuya condición y funcionamiento es clave para la producción de alimentos y para el mantenimiento de la calidad ambiental a escalas local, regional y global. No sólo es la base para la agricultura y para los diferentes ecosistemas, sino que además, de él depende toda la vida del planeta, razones por las cuales se hace importante realizar diversos análisis para determinar si las características que presenta, son aptas para desarrollar sus funciones ^[10].

La fertilidad del suelo es una cualidad resultante de la interacción entre las características físicas, químicas y biológicas del mismo y consiste en la capacidad de poder suministrar condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo de las plantas ^[10].

En lo referente al suministro de condiciones óptimas para el asentamiento de las plantas, estas características no actúan independientemente, sino en armónica interrelación, que en conjunto determinan la fertilidad del suelo. Por ejemplo, un suelo puede estar provisto de suficientes elementos minerales – fertilidad química- pero que no está provisto de buenas condiciones físicas y viceversa ^[11].

Igualmente, la fertilidad del suelo no es suficiente para el crecimiento de las plantas. El clima juega un papel importante y determinante en muchos casos. Por ejemplo se puede tener un suelo fértil que a dadas temperaturas extremas, no es capaz de producir buenas cosechas, entonces es un suelo fértil, no productivo ^[12].

Para que el suelo produzca plantas debe tener ciertas condiciones conocidas como fertilidad, las cuales dependen de varios factores:

- **Disponibilidad de agua:** los suelos sin agua, como en los desiertos, no pueden hacer crecer las plantas por la falta de este elemento esencial. La calidad del agua también es importante. Si el agua es salada sólo dejará crecer plantas con alta resistencia a la sal ^[12].
- **Espesor del suelo útil:** se refiere a la capa de materiales sueltos, es decir, los horizontes O, A y B. La falta de los horizontes O ó A significa que los suelos son pobres en materia orgánica y en consecuencia, de poca fertilidad ^[12].
- **Cantidad de materia orgánica presente:** la materia orgánica o humus es esencial para la fertilidad de los suelos. Para suelos de clima medio el valor apropiado debe estar entre 3 y 5 % ^[12].

- **Organismos vivos del suelo:** los organismos vivos del suelo juegan un rol muy importante en la transformación de la materia orgánica. Su presencia es indispensable para la fertilidad de los suelos. Cuando el suelo se contamina por exceso de pesticidas y fertilizantes químicos, los organismos vivos se reducen o mueren, lo que afecta la fertilidad ^[12].
- **Capacidad de almacenar las sustancias nutritivas contenidas en el agua:** esta capacidad se conoce como fuerza de absorción. La mayor capacidad la tienen los coloides del suelo, a los que pertenecen en primer lugar las arcillas y el humus. Gracias a su carga eléctrica estos coloides pueden almacenar compuestos minerales esenciales para las plantas ^[12].

Estos elementos minerales esenciales son los siguientes:

- **Macronutrientes:** necesarios en proporciones mayores, como derivados del agua y del aire (C, H y O); derivados de minerales (Ca, Mg y K); derivados de materia orgánica (N); y derivados de minerales y materia orgánica (P, S) ^[12].
- **Micronutrientes:** necesarios en proporciones muy pequeñas. Son B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo y Zn ^[12].
- **Reacción química del suelo o el pH:** Es la expresión del contenido de iones de hidrógeno (H^+) e hidroxilo (OH^-) en el suelo, como consecuencia de las diversas reacciones químicas. El pH se mide con potenciómetros de diversos tipos y sobre una escala de 0 a 14. Un valor menor a 6,5 indica suelos ácidos; entre 6,5 y 7,4 indica suelos neutros y superior a 7,5 indica suelos alcalinos. Los mejores suelos son los neutros o de valores cercanos a pH neutro. Los suelos demasiado ácidos o alcalinos no son buenos para la agricultura. Esta condición puede ser corregida mediante técnicas de preparación, siempre que sea posible y rentable. Cuando es muy caro para las actividades agrícolas se podrán plantar bosques con especies adecuadas a esas condiciones ^[12].

La fertilidad y el funcionamiento de los suelos dependen en una gran proporción de las propiedades bioquímicas y microbiológicas, ya que son muy importantes para definir las principales funciones edáficas: productiva, filtrante y degradativa. Por lo tanto, la actividad biológica y bioquímica del suelo es de suma importancia en el mantenimiento de la fertilidad de los hábitats terrestres y consecuentemente del funcionamiento de los ecosistemas forestales y agrícolas ^[13].

3.3 IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS COMO INDICADORES DE LA CALIDAD DE SUELOS

La calidad del suelo está definida como la capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites de un ecosistema natural o manejado, sostener la productividad de plantas y animales, mantener o mejorar la calidad del aire y del agua, sostener la salud humana y el hábitat, por consiguiente, la calidad y salud de este recurso determina la sostenibilidad de la agricultura, la calidad ambiental y como consecuencia la salud de plantas, animales y del hombre ^[14]. Sin embargo, a pesar de la importancia para la vida, el suelo no ha recibido la atención que merece, incrementándose su degradación que resultaría en una seria amenaza para el futuro. Recientemente y consciente de éste incremento, se ha generado interés por encontrar una medida para intensificar, preservar e incrementar la calidad del suelo, para ello, es necesario contar con una sólida concepción de la calidad y con indicadores de calidad o salud del suelo y del manejo sostenible de la misma, sin embargo, la dificultad de esta labor radica en que el suelo es una entidad dinámica con multitud de procesos biológicos y geoquímicos que muestran una elevada heterogeneidad espacial y temporal, y con mecanismos de control que cambian según la escala espacio-temporal ^[14].

Los indicadores candidatos a cuantificar la calidad del suelo se deben caracterizar por ser ^[15]:

- fácilmente medibles
- sensibles al estrés
- responder de forma predecible
- ser anticipatorios, es decir, adelantarse al cambio más o menos reversible
- tener una baja variabilidad “natural” en su respuesta

Características que están presentes en los microorganismos que habitan el suelo.

Sin embargo, las propiedades que se utilizan como indicadores de calidad no necesariamente están directamente relacionadas con la salud. En general, la respuesta de los suelos y de los ecosistemas a una alteración tiene dos componentes: resistencia y resiliencia. La resistencia, es la capacidad inherente del sistema para tolerar la alteración; y la resiliencia, es la capacidad amortiguadora y la habilidad para regenerarse. Por otro lado, la biodiversidad es una propiedad que condiciona la capacidad de recuperación del sistema edáfico ante una alteración y mantiene su estabilidad funcional. Hay evidencias de la relación que existe entre los organismos que habitan en el ecosistema (diversidad, estructura de la cadena trófica, estabilidad de las

comunidades) y la elasticidad de un suelo, pero se conoce muy poco acerca de cómo la biodiversidad asegura la continuidad de funciones específicas ^{[15],[16]}.

La actividad biológica en el suelo se concentra en sus capas superficiales, cuya profundidad puede variar de unos pocos centímetros hasta 30cm. En la capa superficial, los componentes biológicos ocupan una pequeña proporción (0.5%) del volumen total del suelo y menos de 10% de la MO total. Los microorganismos forman una gran parte de estos componentes biológicos del suelo y a pesar de su pequeño volumen son fundamentales para el ciclaje de nitrógeno, azufre, fósforo y la descomposición de MO. Por tanto, ellos afectan el ciclaje de nutrientes y carbono en la escala global ^[14].

Además de éste efecto sobre el ciclaje de nutrientes, los microorganismos también afectan las propiedades físicas y químicas del suelo. La producción de polisacáridos extracelulares y otros detritos celulares por los microorganismos ayudan a mantener la estructura del suelo porque estos materiales funcionan como agentes cementantes, los cuales estabilizan los agregados del suelo. Por lo tanto, ellos también afectan otras variables de los suelos tales como la tasa de infiltración de agua, la capacidad de campo, la erosividad y la susceptibilidad a la compactación ^[17].

Los microorganismos son dotados con la capacidad para dar una medida integrada de la salud del suelo en un momento dado. Ellos aluden que éste aspecto no puede ser obtenido mediante el análisis del componente físico y químico del suelo o la diversidad de organismos superiores de la cadena alimenticia. Ellos creen que los microorganismos responden rápidamente a cambios y por tanto se adaptan igualmente rápido a las condiciones ambientales. Esta adaptación potencialmente permite que los análisis microbianos puedan ser discriminantes en el asesoramiento de la salud del suelo y las variaciones en las poblaciones y actividades de los microorganismos pueden funcionar como excelentes indicadores de cambios en la calidad del suelo ^[18].

Los microorganismos responden de manera rápida al estrés ambiental en comparación a otros organismos más altos en el nivel trófico, porque tienen una estrecha relación con sus alrededores debido a su alta relación superficie-volumen ^[18]. En algunos casos, cambios en las poblaciones microbianas o sus actividades pueden preceder cambios detectables en las propiedades físicas y químicas del suelo, por lo tanto podrían ser usados como indicadores tempranos de la degradación o mejoramiento de los suelos. La tasa de cambio de la biomasa microbiana es un buen ejemplo, ésta tasa es mucho más rápida (1-5 años) que el cambio en el contenido total de la MO del suelo ^[19].

Estos indicadores microbiológicos del suelo están relacionados directa o indirectamente con la estructura y función de los microorganismos y dan una medida integrada de la calidad del suelo, aspecto que no puede ser obtenido a través del análisis tradicional de variables físico-químicas tales como pH, capacidad de intercambio catiónico, etc. ^[20].

Por tanto, la importancia de los microorganismos en ambientes naturales, deriva de su diversidad y sobre todo de sus amplias actividades, las cuales en la mayoría de los casos repercuten en el desarrollo de las plantas. En este sentido, la presencia de microorganismos con gran potencial en la mineralización del fósforo, especialmente en suelos de baja fertilidad, juegan un papel importante en la disponibilidad de este elemento para las plantas.

La selección de indicadores adecuados y que cumplan las condiciones mencionadas es vital para la evaluación de prácticas de manejo adecuadas tanto con el medio ambiente como con el suelo.

3.3.1. INDICADORES MICROBIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS

➤ Bacterias:

Es un indicador que refleja la población potencial de las bacterias en un determinado suelo, especialmente aquellas que ocupan diferentes nichos o hábitat en forma saprofítica. La función básica de las bacterias es la descomposición y mineralización de los residuos orgánicos, de donde obtienen su fuente energética y alimenticia. Mediante su metabolismo liberan al medio sustancias como enzimas, proteínas, reguladores de crecimiento, metabolitos y algunos nutrientes. Los beneficios de las bacterias para los cultivos se relacionan con un incremento en la cantidad de raíces y un aporte importante de elementos básicos para el desarrollo y producción ^[21].

El número de bacterias tiene una estrecha relación con algunas propiedades físicas del suelo, como la textura, estructura, porosidad, aireación y retención de humedad, ya que su actividad se beneficia con una mayor disponibilidad de oxígeno, principalmente en aquellos suelos con poca compactación y sin excesos de agua. Dentro de las propiedades químicas que favorece la actividad de las bacterias se encuentra un pH cercano a la neutralidad, una baja acidez, altos contenidos de materia orgánica y alta disponibilidad de algunos elementos necesarios para su metabolismo, como N, Ca y Mg ^[21].

También es importante tener en cuenta algunos factores que pueden afectar negativamente las poblaciones de bacterias, dentro de los cuales se encuentran organismos antagónicos y sustancias contaminantes en el suelo, así como la aplicación de agroquímicos.

➤ **Hongos:**

Es un indicador que refleja la población potencial de los hongos en un determinado suelo (unidades formadoras de colonias por gramo del sustrato). La función básica de los hongos es la descomposición y mineralización de los residuos orgánicos frescos o recién incorporados al suelo, por esto se les conoce como descomponedores primarios que mediante su metabolismo liberan gran cantidad de enzimas capaces de destruir compuestos de estructuras complejas, para así obtener su fuente energética y alimenticia. Además liberan al medio proteínas, reguladores de crecimiento, metabolitos y algunos nutrientes. Los beneficios de los hongos para los cultivos se relacionan con un incremento en la cantidad de raíces, una protección al ataque de fitopatógenos y un aporte importante de elementos básicos para el desarrollo y producción ^[21].

Al igual que las bacterias y actinomicetos, la disponibilidad de oxígeno en el medio es importante, ya que el número de hongos del suelo tiene una estrecha relación con propiedades físicas relacionadas con la función filtrante del suelo: textura, estructura, porosidad, aireación y retención de humedad. En cuanto a parámetros químicos, se favorece la actividad de los hongos a un pH del suelo medianamente ácido, una acidez intercambiable intermedia, altos contenidos de materia orgánica y alta disponibilidad de elementos esenciales. Organismos antagónicos y sustancias contaminantes son factores que también afectan la actividad de los hongos en el suelo ^[21].

➤ **Biomasa microbiana:**

La biomasa microbiana es el componente más activo del suelo, forma parte del “pool” de la materia orgánica y cumple una función muy importante en el humus, ya que interviene en los procesos de mineralización de nutrientes, una vez muertos ponen a disposición de otros microorganismos y de las plantas los nutrientes contenidos en los restos microbianos y, por otro lado, también participan en la inmovilización ^[21]. Así, los ciclos de algunos nutrientes mayoritarios, como el carbono, demuestran que la biomasa microbiana es clave en la dinámica de los nutrientes esenciales en el sistema edáfico; por ello, algunos autores afirman que la biomasa microbiana y su actividad en el suelo puede ser empleada como índice de comparación entre sistemas naturales o como indicador de las variaciones sufridas en el equilibrio de un suelo debido a la presencia de agentes nocivos o su manejo productivo. Es decir, que los parámetros microbiológicos, y por tanto bioquímicos, sirven para indicar posibles cambios netos en el equilibrio del suelo que no podrían detectarse con métodos tradicionales ^{[22],[23]}. Los indicadores más comunes que se utilizan son, entre otros, la biomasa microbiana, la respiración del suelo y las relaciones con la materia orgánica y

el estado fisiológico del suelo, donde se ve involucrada la energía en los procesos orgánicos ^[24]. En cuanto a la biomasa microbiana, este indicador expresa la cantidad de microflora presente en el suelo a través de la extracción del carbono microbiano. El mismo se ve afectado por la agroclimatología que sufren las muestras *in situ*, es decir, la humedad, el calor, la biodiversidad de residuos orgánicos al ecosistema y por sustancias agresivas a la actividad microbiana. Esta actividad depende sustancialmente de la materia orgánica (MO) del suelo ^[25].

3.4 MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO.

La materia orgánica es uno de los componentes del suelo más complejos que existen en la naturaleza, complejidad que se refleja en su composición química. Por ello, se dice que la materia orgánica del suelo (MOS), contiene probablemente la mayor parte, sino todos los compuestos orgánicos que se presentan naturalmente, porque se origina de los productos metabólicos y los tejidos de plantas, animales y microorganismos. La MO tiene un profundo efecto sobre la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento de la planta, además sirve como fuente de N, P y S a través de su mineralización ^[24].

La materia orgánica tiene funciones muy importantes en el suelo y en general, en el desarrollo de una agricultura acorde con las necesidades de preservar el medio ambiente y a la vez más productiva. Para ello es necesario partir del conocimiento de los procesos que tienen lugar en el suelo (ciclos de nutrientes) y de la actividad biológica del mismo, con el fin de establecer un control de la nutrición, del riego y del lavado de elementos potencialmente contaminantes.

3.4.1. Efectos de la Materia Orgánica sobre las características físicas, químicas y biológicas del suelo

3.4.1.1 Características físicas.

La MO disminuye la densidad aparente del suelo (por tener una menor densidad que la materia mineral), contribuye a la estabilidad de los agregados, mejora la tasa de infiltración y la capacidad de retención de agua. Existen numerosos estudios sobre la mejora de estas características tras el aporte de materia orgánica, aunque no queda bien claro qué estadio de la materia orgánica favorece qué proceso ^[26].

La MO viva de origen vegetal se caracteriza por una estructura celular abierta. Las partículas de cortezas o corcho o las fibras vegetales tienen células en su interior que contribuyen a aumentar la porosidad del suelo

(porcentaje de poros), es decir, aumenta el número de poros que son capaces de retener agua o aire sin aumentar el volumen total de suelo. Los espacios vacíos que se forman en la interfase entre las partículas orgánicas y minerales pueden contribuir al aumento de la conductividad hidráulica del suelo. Debido al efecto físico del tamaño de las partículas, la materia orgánica aumenta la capacidad de retención de agua de suelos arenosos y aumenta la capacidad de aireación de suelos arcillosos. Tolera mejor los efectos mecánicos del paso de maquinaria por tener una mayor elasticidad que la materia mineral. Al cohesionar los suelos arenosos contribuyen a reducir las pérdidas de suelo por erosión superficial [26].

En todos los suelos en general, favorece la estructura agregada que limita el arrastre de partículas de suelo, canalizando a la vez el paso del agua a través del mismo. Además, los residuos orgánicos fácilmente descomponibles dan lugar a la síntesis de compuestos orgánicos complejos que actúan ligando las partículas del suelo favoreciendo la formación de agregados, lo que repercute en una mejora de la aireación y de la retención de agua [26].

La MO tiene también efectos importantes sobre la temperatura del suelo. La materia orgánica tiene una conductividad térmica más baja que la materia mineral, mientras que las diferencias en la capacidad calorífica son bajas porque dependen del contenido de humedad. Al tener una conductividad térmica baja, la materia orgánica mantiene las temperaturas constantes en el tiempo, reduciéndose las oscilaciones térmicas. Al tener un color más oscuro que el suelo mineral disminuye la radiación reflejada, calentándose más [26].

3.4.1.2 Características químicas.

La MO tiene un papel importante en la mejora de la disponibilidad de micronutrientes (principalmente hierro, manganeso, zinc y cobre) para las plantas así como en la reducción de los efectos tóxicos de los cationes libres. Muchos metales que precipitarían en suelos en condiciones normales, se encuentran mantenidos en la solución del suelo en forma quelatada. Es probable que estos micronutrientes sean transportados hacia las raíces de las plantas en forma de quelatos complejos solubles [26].

La MO mejora la nutrición en fósforo favoreciendo el desarrollo de microorganismos que actúan sobre los fosfatos. Es posible que la formación de complejos arcillo-húmicos o la quelatación contribuyan a solubilizar los fosfatos inorgánicos insolubles. Parece que las sustancias húmicas aumentan la liberación de potasio fijado a las arcillas [26].

La MO contiene un número elevado de grupos funcionales (carboxílicos, hidroxílicos, aminoácidos, amidas, cetonas y aldehídos). Entre ellos, son los grupos carboxílicos los que contribuyen en mayor grado a la adsorción de moléculas de agua en forma de puentes de hidrógeno o enlaces coordinados. Los grupos funcionales de la materia orgánica proporcionan capacidad de intercambio catiónico, contribuyendo por tanto a aumentarla en suelos con bajo contenido en arcilla. También proporcionan una mayor capacidad tampón, lo que afectará a la cantidad de enmienda a utilizar si se desea subir el pH (mayor cantidad de enmienda a mayor capacidad tampón) [26].

La MO suele acidificar el medio, favoreciendo así indirectamente la absorción de nutrientes por las plantas [26].

3.4.1.3 Características biológicas.

La MO sirve de fuente de energía para los microorganismos del suelo. Favorece la presencia de lombrices que contribuyen a estructurar el suelo. Algunos materiales orgánicos presentan actividad supresora frente a hongos y se utilizan para combatir hongos patógenos. La supresión puede ser biótica o abiótica y puede deberse a diversos factores, entre ellos, factores físicos relacionados con la disponibilidad de oxígeno y el drenaje, un pH inadecuado al desarrollo de los microorganismos patógenos, presencia o ausencia de elementos como el nitrógeno, etc. [26].

La materia orgánica puede proporcionar actividad enzimática. Existen enzimas activas adsorbidas al humus o a las partículas de arcilla no ligadas a las fracciones vivas. En general las enzimas contribuyen a hidrolizar moléculas de cadena larga, haciendo disponibles para las plantas algunos elementos resultantes de la hidrólisis [26].

Algunos productos derivados de la descomposición de la materia orgánica, como los derivados fenólicos, afectan al balance hormonal inhibiendo o favoreciendo la actividad de las hormonas vegetales. Algunos materiales como las cortezas, contienen sustancias que inhiben el crecimiento y que se eliminan generalmente mediante el compostaje. Existen también algunas hormonas ligadas a la materia orgánica, como las auxinas, o el etileno que se libera en condiciones reductoras (por ejemplo, por exceso de agua). La materia orgánica puede adsorber reguladores de crecimiento que se pueden añadir de forma externa. También tiene un papel importante en la absorción de pesticidas aplicados al suelo [26].

En la mineralización, los residuos sufren un proceso de degradación hasta los componentes elementales de las proteínas, carbohidratos y otros, los

productos resultantes pueden ser objeto de nuevos procesos de resíntesis y polimerización, dando lugar a nuevos agregados químicos que reciben el nombre de sustancias húmicas con características específicas; este proceso recibe el nombre de humificación [27] [28].

Hay una gran diferencia entre la materia orgánica descomponible y la materia orgánica humificada. El humus es un producto de descomposición parcial de la materia orgánica fresca con posterior síntesis. Cuando se ha formado en un suelo con pH de 5.6 es una sustancia agregadora de grumos. Cuando se descompone, se rompen las uniones orgánicas entre las partículas del suelo y, por lo tanto, la estructura biológica decae al deshacerse los agregados mayores. El suelo se torna amorfo y hay gran pérdida de gran parte de la productividad [27] [29].

Los diferentes grupos de MO en los suelos son influenciados por distintos factores. Las partículas de materia orgánica libre y la biomasa microbiana de los suelos son controladas por el aporte de residuos, manejo de residuos de cultivos o cobertura del suelo y el clima. La agregación del suelo, la textura y la mineralogía controlan la materia orgánica en macroagregados y por lo tanto, la labranza tiene un gran efecto sobre el tamaño de esos reservorios. Los otros reservorios son menos afectados por los factores agronómicos pero lo son sobre todo por factores pedológicos (microagregación, composición de la arcilla) [27] [29].

La MOS es un indicador clave de la calidad del suelo, tanto en sus funciones agrícolas (p. ej. producción y economía) como en sus funciones ambientales entre ellas captura de carbono y calidad del aire. Es la principal determinante de la actividad biológica de este compartimento ambiental. La cantidad, diversidad y actividad de la fauna del suelo y de los microorganismos están directamente relacionadas con la materia orgánica. La materia orgánica y la actividad biológica que ésta genera, tienen gran influencia sobre las propiedades químicas y físicas de los suelo [24].

Existe una estrecha relación entre el contenido de MO y la actividad enzimática, estando ambos parámetros influenciados por los cultivos y el sistema de laboreo del suelo. Dentro del sistema enzimático del suelo, las fosfatasas constituyen un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos del ácido fosfórico y su importancia radica en la mineralización del fósforo orgánico para su asimilación por las plantas, hecho de especial trascendencia en suelos tropicales donde la deficiencia de P constituye uno de los factores restrictivos para la productividad de los cultivos [29].

3.5 EL FÓSFORO

Entre los tres elementos principales (N, P, K), el fósforo es requerido por las plantas generalmente en menores cantidades; sin embargo, su estudio ha adquirido la mayor importancia a causa de la baja disponibilidad de este elemento en la mayoría de los suelos agrícolas del mundo, debido no sólo a que su contenido total es bajo, sino a las múltiples reacciones que ocurren en el suelo, llevándolo a formas no asimilables ^[30].

El fósforo es un elemento esencial para todas las formas de vida: Animal, vegetal y microbiano. Su contenido en los vegetales es de 0.5 – 1% de la materia seca en forma de fosfato (P_2O_5). Participa en muchas fases del metabolismo celular ya que hace parte de estructuras como ácidos nucleicos: ADN y ARN moléculas fundamentales en el flujo de la información genética; del sistema ATP-ADP esencial para la transformación de energía en procesos catabólicos y anabólicos; de fosfolípidos moléculas constituyentes de las membranas biológicas y de varias proteínas y enzimas esenciales en el funcionamiento celular ^[31].

3.5.1 Formas del fósforo en el suelo

El fosfato en la solución del suelo representa la fracción más pequeña, pero a la vez la más importante para la planta, debido a que son estos aniones disueltos los que ella absorbe.

Los fosfatos del suelo se pueden dividir en dos grandes grupos: **inorgánicos** y **orgánicos**.

3.5.1.1 Fósforo inorgánico

Los iones hidrógeno del ácido fosfórico se reemplazan por cationes, formando sales ^[32]. Comprenden:

- **Fosfato insoluble de la roca madre (mineral primario):**
Representa una gran parte del fosfato total del suelo. En esta forma es completamente indisponible para la planta. Constituye una reserva a largo plazo, la cual solo puede volverse disponible mediante procesos de meteorización a través de lentas y prolongadas transformaciones físicas, químicas y biológicas ^[32].
- **Fosfato precipitado o en forma de compuestos inorgánicos poco solubles.**

Cuyas principales formas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Principales formas de fosfato inorgánico [33]

Fosfatos	Denominación	Composición	Características
	Hidroxiapatita	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}(\text{OH})_2$	mayor abundancia
	Oxiapatita	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \text{CaO}$	
Calcio	Fluorapatita	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \text{CaF}_2$	mayor abundancia
	Carbonatoapatita	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \text{CaCO}_3$	
	Fosfato tricálcico	$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	
	Fosfato bicálcico	CaHPO_4	mayor solubilidad
Hierro	Fosfato monocálcico	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	mayor solubilidad
	Vivianita	$\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	
	Estrengita	$\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	
Aluminio	Variscita	$\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	

En suelos ácidos predominan los fosfatos precipitados de hierro y aluminio, mientras que en suelos calizos, son los fosfatos de calcio en forma de apatita. En suelos de pH elevado, la actividad del calcio controla la solubilidad del fósforo. Las relaciones encontradas indican que el H_2PO_4^- de los fosfatos de calcio es insoluble en suelos alcalinos, pero soluble en medios ácidos [30].

Los fosfatos de calcio comprenden una variedad de compuestos que varían en su solubilidad, desde relativamente solubles como monofosfatos y difosfatos de calcio presentes en cantidades pequeñas hasta las apatitas (hidroxi y fluoroapatitas) prácticamente insolubles. Los fosfatos de hierro y aluminio varían también ampliamente en solubilidad, dependiendo de la cantidad de fósforo presente. En los suelos ácidos es posible también la formación de sesquióxidos y sobre estos la formación de la estrengita y la variscita [31].

Entre los fosfatos inorgánicos se pueden distinguir formas químicamente bien definidas y cristalizadas, y otras no bien cristalizadas o amorfas, como los fosfatos adsorbidos y presentes en la solución del suelo.

Entre los fosfatos cristalinos encontramos los cálcicos, aluminicos y férricos; entre los primeros, son de importancia el fosfato monocálcico ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$), el fosfato dicálcico (CaHPO_4), y sus formas hidratadas ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), las apatitas hidroxidadas ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) y sus variedades fluorada y carbónica. Entre los segundos se destacan: el fósforo aluminico (variscita, $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y los fosfatos férricos o ferrosos (vivianita $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, y estrengita $\text{Fe}_4\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Existen también fosfatos cristalinos complejos, derivados de la transformación de fertilizantes como taranakitas, fosfatos octacálcicos, gorceixita, cranealita y otros [32].

Por otro lado se deben considerar formas químicamente no bien definidas, no bien cristalizadas o amorfas, como los fosfatos adsorbidos al complejo coloidal y los ocluidos en los hidróxidos de Al, Fe y Mn a través de su proceso de cristalización y crecimiento. Estos fosfatos se denominan, generalmente, fosfatos ocluidos o inertes ^[32].

3.5.1.2 Fósforo orgánico

El P orgánico está compuesto por varias fracciones que varían desde las más fácilmente utilizables por la planta hasta las más resistentes a la mineralización. Puede representar desde un 15 al 80 % del contenido total de P en el suelo, siendo normal encontrar valores entre el 30 y 50 % en muchos suelos. Cuando se trata de suelos pobres en fósforo, la mineralización de la fracción orgánica, es importante en el reciclado ya que libera fósforo inorgánico a la solución, contribuyendo a mantener un nivel adecuado de fósforo disponible para las plantas ^[31].

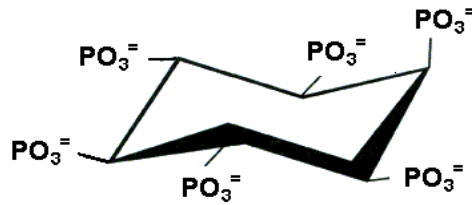
Algunos investigadores encontraron que la cantidad de P mineralizado en suelos de regiones templadas puede alcanzar valores entre 5 a 20 kg/ha/año, mientras que en los suelos tropicales puede variar desde 67 a 157 kg de P/ha/año. Esto remarca la importancia que puede tener la fracción orgánica del fósforo como fuente de fósforo disponible para las plantas y lo variable de su rol, en función de las diferentes condiciones de suelo, de clima y prácticas de cultivo.

El nivel de fósforo orgánico en los suelos, puede generalmente variar entre 25 y 75%, en casos extremos, estos límites pueden extenderse hasta 3 y 85% del fósforo total. Estas variaciones en el contenido de fósforo orgánico dependen de diversos factores tales como la temperatura, precipitación pluvial, acidez del suelo, grado de desarrollo, material parental y drenaje entre otros ^[31]. De acuerdo con la estructura química en la materia orgánica, existen cinco tipos principales de compuestos fosfatados:

➤ Fosfatos de inositol.

Son moléculas resultantes de la esterificación del inositol con grupos fosfato. Estos compuestos representan entre un 30 y 80% del fósforo orgánico del suelo; el más común es el hexafosfato de inositol cuya estructura se observa en la figura 1.

Figura 1. Estructura del hexafosfato de inositol

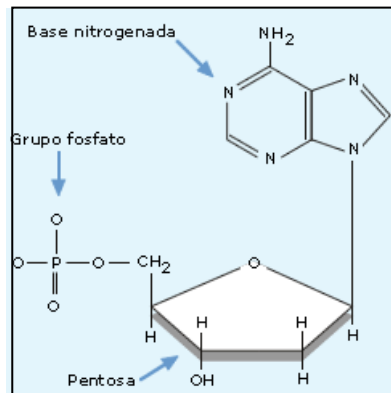


Los fosfatos de inositol son importantes componentes de granos de cereales en forma de fitatos de calcio y magnesio, denominados fitina. Los hexafosfatos de inositol encontrados en el suelo pueden ser también de origen microbial, puesto que varios microorganismos pueden sintetizar esta molécula. En las plantas pueden encontrarse además ésteres de inositol con uno a cinco fosfatos, aunque el hexafosfato es el más abundante [29].

➤ **Ácidos nucleicos**

En los suelos los microorganismos sintetizan sus propios ácidos nucleicos a partir de pentosas, bases púricas, pirimidínicas y grupos fosfatos. Por acción de las fosfatasas, se libera fosfato al suelo. La participación de los ácidos nucleicos en el aporte de fósforo orgánico al suelo, puede llegar hasta un 65% del total del fósforo orgánico, aunque en general, el porcentaje de fósforo derivado de ácidos nucleicos no pasa de 3% como lo indican varios reportes [6]. En la figura 2 se muestra una representación de los ácidos nucleicos.

Figura 2. Representación de los ácidos nucleicos

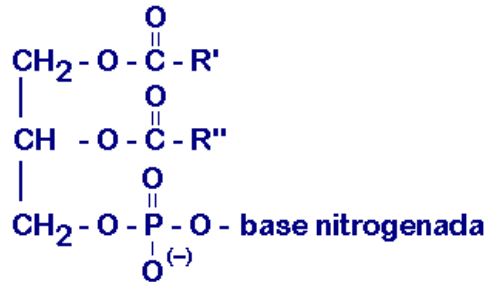


➤ **Fosfolípidos**

Son moléculas anfipáticas porque en su estructura poseen regiones no polares debidas a cadenas hidrocarbonadas de ácidos grasos y regiones polares de las que hace parte el grupo fosfato. La cantidad total de

fosfolípidos en el suelo es en general menor de 5µg/g. Los fosfolípidos representan entre el 0.5 y el 7% del fósforo orgánico con un valor medio del 1% [6]. Su fórmula general se relaciona en la figura 3.

Figura 3. Fórmula general de los fosfolípidos



➤ **Fosfoproteínas**

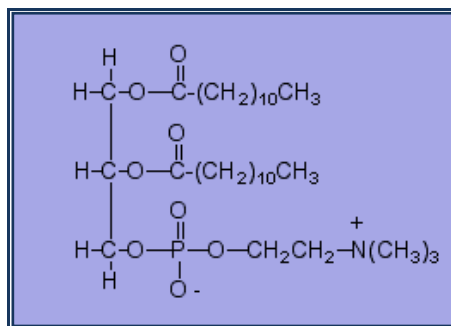
Son heteroproteínas que al hidrolizarse producen, además de los aminoácidos, un grupo inorgánico "grupo prostético" como el fosfato [6].

➤ **Fosfatos metabólicos**

Para que puedan ser utilizados, deben combinarse con el ácido fosfórico y producir el desdoblamiento de la glucosa que proporciona energía y la contracción muscular, la cual exige la combustión de los azúcares. El fósforo permite así a la glucosa transformarse en ácido láctico con desprendimiento de energía. Los compuestos fosfóricos favorecen la absorción de las grasas a nivel del intestino. Por otra parte aseguran el transporte de los ácidos grasos de que tiene necesidad el organismo, después de haberlos transformado en lecitinas [6].

La lecitina es una fosfatidilcolina cuya fórmula se relaciona en la figura 4.

Figura 4. Estructura de la Lecitina



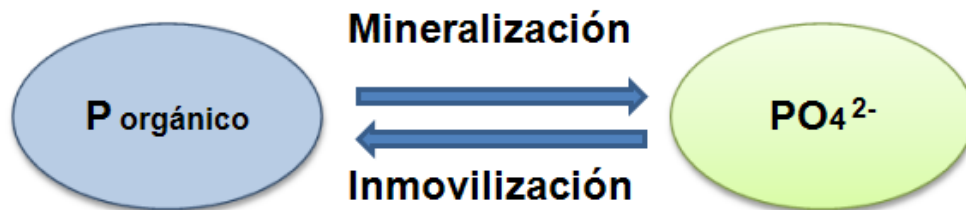
En el humus se encuentran fosfatos en proporciones entre 0,8 y 2,5% expresados como P_2O_5 . Entre mayor sea el contenido de humus del suelo, más rico será este en fosfatos orgánicos. También en la masa microbiana del suelo hay una pequeña fracción de fósforo orgánico que solo se hace disponible para la planta con la muerte y desintegración de los microorganismos [29].

3.6 MINERALIZACIÓN DE FÓSFORO ORGÁNICO

Los microorganismos del suelo son componentes integrales del sistema suelo - planta y en particular importantes en la influencia de nutrientes como el fósforo en la planta, pueden afectar el suministro de P a las plantas superiores a través de la descomposición de compuestos orgánicos de P, a través de la inmovilización de los fosfatos disponibles y promoviendo la solubilización de las formas minerales insolubles o fijadas (agentes quelantes). La biomasa microbiana en sí contiene una gran cantidad de nutrientes que son potencialmente disponibles para las plantas [34].

El nivel de fosfato soluble en el suelo depende de dos procesos opuestos que se observan en la figura 5.

Figura 5. Proceso de mineralización e inmovilización del fósforo



La mineralización de fitatos es relativamente lenta, pero se trata de una importante fuente de PO_4^{3-} para las plantas, ya que la actividad de fitasas es común entre el suelo, microorganismos y hongos micorrizógenos. Así, compuestos como fosfoazúcares, ácidos nucleicos y fosfolípidos forman sólo una pequeña parte del contenido de fósforo orgánico que son mineralizados rápidamente. La lábil parte orgánica de P se define como "la piscina orgánica que experimenta una rápida transformación y contribución del P disponible para las plantas a través de la mineralización [34].

El contenido de P de los residuos de la descomposición de la materia orgánica desempeña un papel clave en la regulación de la cantidad de fósforo soluble. La inmovilización neta se produce cuando la relación

carbono/fósforo orgánico (C/P_{org}) es de 300 o más, mientras la mineralización neta cuando la relación es 200 o menos.

La mineralización y la inmovilización de fósforo orgánico como un proceso biológico está muy influenciado por diversas propiedades físicas y químicas del suelo e inducidas por el hombre. A continuación se describen los factores que afectan el grado de mineralización del fósforo orgánico: [35]

- **Temperatura:** el grado de mineralización en general aumenta con la temperatura, es bastante rápido a temperaturas por encima de 30°C [34].
- **Humedad:** algunos investigadores han sugerido que la mayor mineralización se produce bajo condiciones de humedad, mientras que otros indican que existe bajo condiciones más secas. Un importante aspecto es la alteración de las zonas secas, con condiciones de humedad [34].
- **pH:** algunos estudios muestran que el grado de mineralización se incrementa con el aumento en el pH del suelo y disminuye cuando el pH es superior a 7. Podría estar asociado con cambios en la solubilidad del fósforo orgánico. El P orgánico es más estable por debajo de pH de 5 y superiores a 7,5 y responsable de la mineralización entre 5 -7 [34].
- **Actividad microbiana:** se ha demostrado que las bacterias del suelo, actinomicetos, hongos y protozoos, pueden hidrolizar los compuestos orgánicos de P. Los procesos de mineralización se indican indirectamente por las correlaciones entre los grados de mineralización de P y C orgánico del suelo o la respiración [36].
- **Diferentes condiciones del suelo:** (condiciones aeróbicas y anaeróbicas), en la que microorganismos varían en su actividad para hidrolizar los fosfatos orgánicos [34].
- **Fosfato inorgánico:** algunos estudios han demostrado que el aumento del grado de mineralización después de la adición de P inorgánico permite al P orgánico ser más fácilmente desfosforilados por acción enzimática, debido a que el P desplazado se enlaza al Fe, Al y Ca [34].
- **Las plantas:** son la fuente de materia orgánica en el suelo, pero su presencia debería aumentar el grado de mineralización de P_{org} (p ej; por la actividad de la fosfatasa) [34].
- **Cultivo:** algunos estudios han sugerido que el cultivo estimula la mineralización del fósforo orgánico [34].

- **Actividad enzimática:** la mineralización de fósforo orgánico es afectada por la acción de las fosfatasas ^[34].

3.7 IMPORTANCIA DE LAS ENZIMAS DEL SUELO.

La importancia fundamental de la actividad de las enzimas del suelo radica en que el funcionamiento de ese ecosistema no se puede entender correctamente sin la participación de los procesos enzimáticos, ya que las enzimas determinan la pauta de gran parte de las transformaciones químicas que se producen en dicho suelo. En 1978 se realizó el primer estudio serio sobre las enzimas del suelo en el que se recoge su origen, rango, cinética e historia, e incluye temas aún hoy en día tan actuales como la interacción de las enzimas y diversos agroquímicos, su significado, y algunos aspectos metodológicos ^[37].

Las enzimas del suelo más estudiadas son las oxidoreductasas (deshidrogenasas, catalasas y peroxidasas) y las hidrolasas (sobre todo fosfatasas, proteasas y ureasa). Una parte de las enzimas del suelo son extracelulares siendo liberadas durante el metabolismo y muerte celular. Otras son intracelulares, formando parte de la biomasa microbiana. Por último, existen las enzimas inmovilizadas que son las que pueden mantener un nivel constante y estable de actividad enzimática en el suelo, independiente de la proliferación microbiana y de las formas usuales de regulación de la síntesis y secreción de enzimas ^{[29], [38]}.

Las enzimas del suelo ofrecen información sobre su capacidad potencial para llevar a cabo reacciones específicas, las cuales son importantes dentro del ciclo de nutrientes tales como el C, N, P y S, aportando información clave sobre aspectos relacionados con la calidad de los suelos. ^{[29], [38]}

Las enzimas muestran una gran sensibilidad frente a procesos no deseables tales como la contaminación de suelos, su degradación e incluso su desertificación. De ahí, que las componentes físicas y químicas del suelo sean importantes para el mismo y puedan considerarse relativamente estables. Sin embargo, teniendo en cuenta la flexibilidad del ecosistema suelo, cualquier cambio puede ser detectado en su inicio por su componente biológica (por ejemplo, por las enzimas). Por lo tanto las enzimas del suelo (su existencia o deficiencia) pueden ser consideradas como una “alerta” ante un posible colapso ambiental, permitiéndonos entonces reaccionar a tiempo antes de que pueda ocurrir un daño irreversible para el mencionado suelo ^[38].

3.8 MEDIDAS DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS

Los ensayos de actividad enzimática proporcionan información sobre la microbiota del suelo. El ciclo de nutrientes implica reacciones bioquímicas, químicas y fisicoquímicas. En casi todos los procesos que ocurren en el suelo intervienen los microorganismos y se encuentran catalizados por enzimas, ya que estas son las mediadoras biológicas del catabolismo biológico y de los componentes orgánicos y mineral del suelo lo que las hace adecuadas como indicadores de la actividad biológica, ya que indican la velocidad de reacción de importantes procesos que ocurren en el suelo. Las enzimas presentes en el suelo provienen de animales, plantas y microorganismos. Generalmente se considera a los microorganismos como la principal fuente de enzimas en el suelo, por lo que la medida de varias enzimas se puede considerar como un indicador de la actividad de las poblaciones microbianas del suelo ^[34].

Las reacciones producidas por acción de microorganismos del suelo, catalizadas por enzimas, desempeñan un papel básico en los ciclos de carbono, nitrógeno, fósforo y azufre del suelo y contribuyen a la detoxificación del suelo degradando contaminantes orgánicos o inmovilizando metales pesados, participando en la formación de la estructura del suelo e influyendo negativamente o positivamente en el crecimiento de las plantas ^[34].

Las enzimas del suelo presentan las siguientes características:

- Con frecuencia se encuentran relacionadas con el contenido de materia orgánica del suelo, con sus propiedades físicas y con la actividad microbiana o la biomasa.
- Son mucho más sensibles que otros parámetros a las alteraciones del medio edáfico lo que proporciona una posibilidad de indicación temprana de cambios en la calidad del suelo.
- Implican diversos procesos como hidrólisis de sustratos, transformación de polímeros en monómeros u oligómeros permitiendo mineralizar algunos nutrientes, contribuyendo a la nutrición mineral de las plantas.

La actividad enzimática puede emplearse como medida de la actividad microbiana, de la productividad del suelo y del efecto inhibitorio de contaminantes. A continuación se citan las principales razones para medir las actividades de las enzimas:

- Informan del potencial bioquímico del suelo requerido para manipular su ecosistema.

➤ Son indicadores de calidad del suelo; los cambios en las actividades enzimáticas son clave para proporcionar información sobre el progreso de las operaciones de recuperación de suelos o sobre la sostenibilidad de determinados sistemas de manejo agrícolas. ^[13]

3.9 FOSFATASA ÁCIDA.

De las numerosas enzimas que han sido detectadas en el suelo, el grupo de las fosfatasa ha recibido una atención considerable. Estas enzimas están ampliamente distribuidas en la naturaleza y tienen la propiedad de hidrolizar compuestos orgánicos del fósforo, pirofosfatos, metafosfatos y polifosfatos presentes en el suelo ^[39]. El interés sobre las mismas se debe a la importancia del fósforo en la nutrición de las plantas.

Las fosfatasa participan en el ciclo del P del suelo catalizando la hidrólisis de esteres y anhídridos del ácido ortofosfórico a formas de P asimilables para las plantas ^[1]. Las más estudiadas son las fosfomonoestearasas que se clasifican en ácidas y alcalinas de acuerdo al pH óptimo para su actividad ^[38].

Estas enzimas constituyen un índice de la potencialidad del suelo para mineralizar el P orgánico y estimar la actividad biológica de los suelos ^[1].

Entre las enzimas hidrolíticas, la actividad de la Fosfatasa ácida ha sido frecuentemente usada como indicador de cambios en cantidad y calidad de la MOS ^[13].

Las fosfatasa ácidas son enzimas que en pH ácido (aproximadamente 5,0) tienen la propiedad de catalizar la hidrólisis de fosfomonoésteres, liberando como productos de la reacción fosfato inorgánico y un alcohol, cuya naturaleza depende del sustrato utilizado.

Varios autores han reportado análisis de la Fosfatasa ácida en diversos tipos de suelos. En 1993, se realizaron investigaciones de las actividades de las fosfatasa en suelo, registrando que la mayoría son de origen microbiano, aunque esta actividad es temporal y se disminuye con rapidez ^[40].

En suelos de tipo Andisol se encontró que algunos niveles de fosfatasa son adsorbidos en la arcilla tipo 2:1 como montmorillonita y aumentan de 21 a 45% con la presencia de capas de OH -Al de 3 a 8 miliequivalentes de Al por gramo de suelo ^[41].

En Colombia, se estudiaron la actividad de esterasas y fosfatasa ácidas y alcalinas en la rizosfera de maracuyá bajo manejo agroecológico y

convencional, encontrando mayor actividad en los primeros 15 cm de profundidad, en los primeros meses de desarrollo del cultivo, con manejo convencional y altos contenidos de materia orgánica y fósforo disponible en manejo agroecológico^[42].

Por tanto, teniendo en cuenta el amplio estudio sobre esta fosfatasa se han publicado numerosos métodos para la estimación de la actividad fosfomonoesterasa del suelo que difieren en el sustrato, condiciones de ensayo, tiempo de incubación o los métodos de detección. Sin embargo, el análisis de la fosfatasa en suelos, está influenciado tanto por factores climáticos y edáficos como antrópicos.

3.9.1 Factores que influyen en la actividad de la fosfatasa del suelo

Varios autores han estudiado los factores ecológicos básicos que influyen en la actividad de las enzimas del suelo ^{[2],[3],[4],[5], [24],[43]}. Entre estos factores se encuentran:

- La humedad, temperatura, aireación, pH, contenido de coloides orgánicos e inorgánicos del suelo y la presencia de sustancias importantes que suplen los organismos del suelo con nutrientes.
- La vegetación, la calidad y cantidad de materia orgánica.
- Activadores e inhibidores, utilizados comúnmente para corregir la acidez del suelo mediante el encalado, tales como carbonato de calcio (CaCO_3), carbonato de magnesio (MgCO_3), óxido de calcio (CaO) ó hidróxido de calcio (Ca(OH)_2).

3.10 ENCALADO DEL SUELO

La acidez o alcalinidad del suelo causan diversos problemas a la vegetación. Los suelos ácidos liberan metales tóxicos y metales pesados, disminuyen la disponibilidad de algunos nutrientes, como el P, Ca y Mg, y reducen el ritmo de la mineralización de la materia orgánica.

El encalado consiste en incorporar al suelo calcio y magnesio para neutralizar la acidez del mismo, es decir, para que el pH alcance un nivel ideal para el desarrollo normal de los cultivos y al mismo tiempo reduzca el contenido del aluminio y manganeso tóxico. El encalado en forma aislada no es suficiente para proporcionar aumento en la producción, debe ir acompañando de la fertilización y del manejo de los suelos. El encalado aplicado correctamente proporciona resultados satisfactorios a corto y largo plazo. Aplicaciones inadecuadas serán beneficiosas en corto plazo pero

perjudiciales a largo plazo. “La cal enriquece a los padres y empobrece a los hijos, cuando es aplicada en exceso”. Para que los nutrientes puedan ser eficientemente aprovechados por los cultivos deben estar disponibles en el suelo en cantidades suficientes y en relaciones equilibradas. Para el logro y mantenimiento de esas condiciones de equilibrio son necesarias la aplicación de prácticas agronómicas en forma racional. La fertilización y corrección de la acidez de los suelos resultan satisfactorias cuando son realizadas en base a los resultados de análisis de suelo ^[43].

La disponibilidad de los nutrientes está determinada por varios factores en especial el valor de pH, que es la medida de concentración de los iones Hidrógeno en la solución del suelo. La mayor solubilidad de gran parte de los nutrientes se encuentra entre un pH de 5,5 a 7. Suelos con pH excesivamente ácidos presentan poca disponibilidad de nutrientes como fósforo, calcio, magnesio, potasio y molibdeno y aumentan la solubilización de zinc, cobre, hierro, manganeso y aluminio, que en función al manejo de suelo y fertilizantes aplicados pueden alcanzar niveles tóxicos para las plantas.

La aplicación del encalado supone un riesgo notable de provocar deficiencias en algunos micronutrientes fundamentales para la nutrición de las plantas, básicamente de boro, pero también de otros como el zinc, manganeso etc. Estos riesgos aumentan conforme aumenta la escasez de dichos micronutrientes en la composición de los suelos, por lo que son más susceptibles de producirse en suelos pobres en micronutrientes que en los originados a partir de roca madre rica en aquellos. Además de las deficiencias citadas, existe toda una serie de efectos indirectos que han de tenerse en cuenta a la hora de los procedimientos de encalado. Entre dichos efectos se puede mencionar el incremento en los requerimientos de boro por la vegetación debido a una mayor absorción de calcio, el aumento de la adsorción de determinados microelementos (ej. Zn) por las partículas finas de ciertos sustratos, y la reducción en la solubilidad de otros, como el Mn ^[43].

Entre las cales comúnmente empleadas en la región del Cauca se encuentran la cal Dolomita, cuya composición está comprendida entre un 55% de CaCO_3 y 35 % de MgCO_3 ; la cal Agrícola (CaCO_3) y el calfos con una composición mínima de 12% de fósforo total, expresado como P_2O_5 ; 28% de calcio como CaO ; 0.14% de magnesio como MgO y otros elementos adicionales como manganeso, zinc, cobre, cobalto, boro, molibdeno, con porcentajes variables.

Se han reportado varios estudios sobre el efecto de la Fosfatasa ácida sobre suelos encalados. En Brasil, se evaluó el efecto de las fuentes del P y del encalado en las actividades de las fosfatasas ácidas y alcalinas y en la producción de braquiaria, *braquiaria ruzizensis*, y de guandu, *cajanus cajan*,

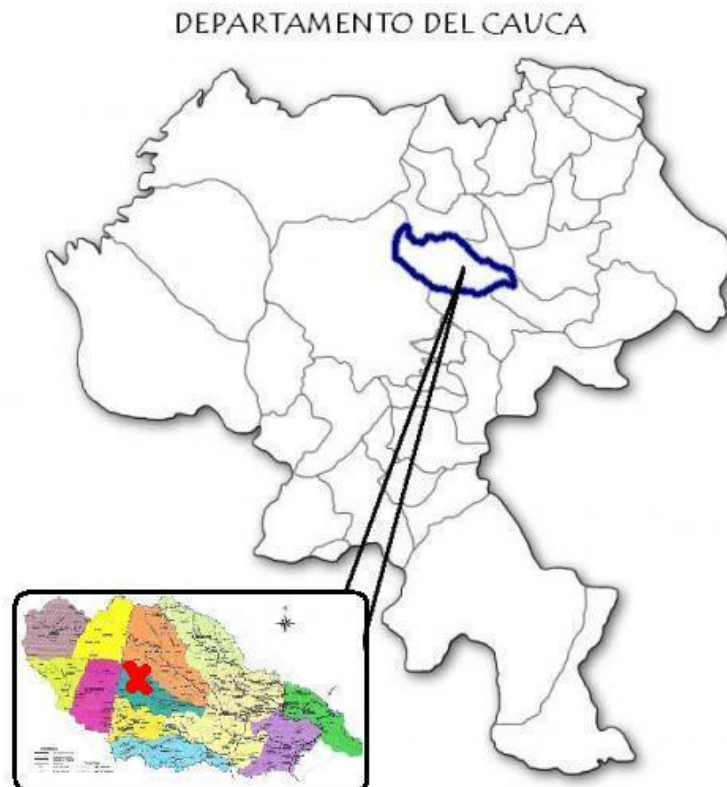
encontrando que en ausencia de encalado, la actividad de ambas enzimas disminuyó en el suelo no fertilizado o fertilizado con superfosfato en relación con la roca fosfórica ^[44]. De similar forma, en USA, evaluaron la actividad de las Fosfatasas ácida y alcalina como indicadores de ajuste de pH en cinco suelos con características diferentes, adicionando diferentes dosis de CaCO_3 según su requerimiento y encontrando que la relación Fosfatasa ácida/Fosfatasa alcalina responde inmediatamente a los cambios de pH ocasionados por adición de CaCO_3 ^[2].

4. METODOLOGÍA

4.1 .UBICACIÓN GEOGRÁFICA.

El sitio de muestreo está ubicado en la finca Santa Rosa, Vereda “La Aurelia”, Municipio de Cajibío, en el Departamento del Cauca ubicado a 1740 msnm, caracterizado por un clima medio con una temperatura promedio de 19°C, dedicado principalmente al cultivo de café, con presencia de limón Taití, plátano y helecho. Las muestras fueron recolectadas en septiembre de 2009, en época de verano. En la figura 6 se observa la ubicación del sitio de muestreo.

Figura 6. Ubicación geográfica del sitio de muestreo



4.2 TOMA DE MUESTRAS

La toma de las muestras de suelos se realizó de acuerdo a la metodología estandarizada en el laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca [32]. Para obtener un valor analítico representativo del volumen del suelo se dividió el terreno seleccionado en unidades de muestreo y se seleccionó una de ellas alrededor de los cultivos. Para tomar las respectivas muestras, se delimitó el área y se cruzó en zig – zag, se hicieron sondeos en la capa arable que comprendió alrededor de 10-20 cm de profundidad. Se tomaron entre 10 y 15 submuestras y se formó con estas una muestra compuesta de 1 Kg. Las muestras compuestas se llevaron al laboratorio, se secaron al aire por 24 horas, se molieron y se pasaron por tamiz de 2 mm. Otra porción de 8kg de muestra se tomó en las mismas condiciones para el estudio de la actividad de la Fosfatasa ácida, se colocó en bolsas de polietileno color negro de 200, almacenándola a 4°C hasta el análisis respectivo. Las muestras fueron recolectadas en septiembre de 2009 efectuándose la fase experimental hasta diciembre del mismo año.

4.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL SUELO

Con el objeto de identificar los suelos a estudiar, se realizaron análisis físicos y químicos, de acuerdo a la metodología estandarizada en el Laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca [31].

4.3.1. Análisis Físicos

4.3.1.1 Humedad: Se refiere al contenido de agua con relación al peso o volumen de la masa de suelo. Se expresa en forma gravimétrica cuando tiene relación con la masa del suelo y volumétrica cuando se relaciona con el volumen del suelo. Se determinó en este caso por el método gravimétrico que es la relación entre la masa de agua y la masa de los sólidos del suelo. Consiste en pesar la muestra antes y después del calentamiento a 105°C con el objeto de eliminar el agua superficial en una estufa con circulación de aire forzado.

4.3.1.2 Textura: Se refiere específicamente a las proporciones de arena, limos y arcillas (partículas menores a 2 mm de diámetro), que se encuentran en una masa de suelo. La textura del suelo es una propiedad física que se emplea como un criterio importante para evaluar otras propiedades como son la capacidad de intercambio catiónico, índices de plasticidad, empleada para la clasificación del suelo entre otras [33].

Se determinó por el método de la pipeta el cual comprende dos pasos generales: uno correspondiente al tamizado de la fracción gruesa (utilizando una variedad de tamices), el otro corresponde a un proceso de sedimentación de la fracción fina en agua (utilizando la pipeta para la evaluación de las diferentes partículas finas).^[35]

4.3.1.3 Densidad por el método del cilindro: Se realizó adicionando una cantidad de suelo fresco en un cilindro metálico previamente secado en la estufa y con dimensiones conocidas, por la relación entre la masa del suelo y el volumen del cilindro se determina la densidad aparente^[33].

4.3.2 Análisis Químicos

Los análisis químicos comprenden las siguientes determinaciones:

4.3.2.1 pH: Se determinó mediante el método potenciométrico, en una suspensión suelo: agua, en relación 1:1 utilizando un potenciómetro METROHM® E-744 con electrodo combinado de vidrio.

4.3.2.2 Acidez intercambiable: Se determinó mediante el método de desplazamiento, que consiste en desplazar los iones H^+ y Al^{+3} del suelo con una solución neutra de cloruro de potasio (KCl). Los iones desplazados son titulables con soda en presencia de fenolftaleína. Una vez titulados estos iones quedan en forma de $Al(OH_2)_5^{2+}$ y se valorará el Al^{+3} presente en forma hidratada de acuerdo a las siguientes reacciones^[33].



El hidróxido de sodio (NaOH) producido se tituló con ácido clorhídrico (HCl) y como la cantidad de NaOH depende de la cantidad de cloruro de aluminio ($AlCl_3$), el número de miliequivalentes de HCl empleados para neutralizar el NaOH es igual al número de miliequivalentes de Al^{+3} . La acidez intercambiable menos acidez de aluminio es igual a la acidez del H^+ .

4.3.2.3 Materia orgánica: Se realizó mediante el método de Walckley – Black, el cual consiste en oxidar el carbono orgánico presente en el suelo con

un oxidante en medio ácido, utilizando como oxidante $K_2Cr_2O_7$ 1N y como medio ácido sulfúrico concentrado ^[31].



4.3.2.4 Determinación de nitrógeno por el método de Kjeldahl: el método empleado es el utilizado universalmente en la determinación cuantitativa de N procedente de diversos materiales; consta de tres etapas:

➤ Oxidación de la muestra: Las muestras de suelo son tratadas separadamente con ácido sulfúrico (H_2SO_4) y una mezcla catalizadora de sulfato de cobre ($CuSO_4$), selenio (Se) y sulfato de potasio (K_2SO_4) para oxidar la materia orgánica y convertir el nitrógeno en sulfato ácido de amonio según la siguiente reacción ^[45]:



El equipo utilizado en la digestión fue el BÜCHI B-426®

➤ Descomposición del sulfato ácido de amonio: el sulfato de amonio se descompone por medio de un exceso de álcali para liberar el amoníaco, el cual se recoge por destilación sobre ácido bórico. Las reacciones son las siguientes:



El equipo de destilación empleado fue BÜCHI K-314®

➤ Titulación del borato de amonio: el borato de amonio formado en el paso anterior se valora con HCl o H_2SO_4 0.1N utilizando como indicadores una mezcla de rojo de metilo y verde de bromocresol. La reacción es la siguiente:



4.3.2.5 Determinación de fósforo disponible: El método utilizado para esta determinación en suelos ácidos fue el Bray II ^[45], en el cual el ión fluoruro precipita el calcio soluble, extrayendo así las formas de P-Ca más solubles. Una vez extraído el fósforo, se procedió a su determinación por el método colorimétrico, el cual consistió en formar un complejo del fósforo con ácido molíbdico que absorbe a 660nm. El método cloro-molíbdico utiliza una solución de HCl-(NH₄)₆Mo₇O₂₄•4H₂O, que al reaccionar produce H₂MoO₄. Posteriormente, este ácido molíbdico reacciona con el ácido fosfórico de acuerdo a la siguiente reacción:



Este heterocompuesto incoloro por reducción con ácido ascórbico forma un compuesto de color azul que absorbe a 660 nm.

El equipo utilizado en esta determinación fue el Espectrofotómetro visible SPECTRONIC GENESYS 20[®].

4.3.2.6 Determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC): Consiste en desplazar todos los cationes del suelo y reemplazarlos por iones NH₄⁺; el suelo seco, tamizado y muy fino, se satura con NH₄⁺. Posteriormente, hay un desplazamiento de los iones NH₄⁺ adsorbidos con cloruro de sodio (NaCl), al 10% obteniéndose cloruro de amonio (NH₄Cl) en solución, que se trata con formaldehído neutro. El HCl obtenido se titula con NaOH 0,1 N. La siguiente reacción muestra lo ocurrido:



4.3.2.7 Determinación de las bases Intercambiables: Correspondientes al Calcio, Magnesio, Sodio y Potasio. Se determinan con el primer extracto del tratamiento con acetato de amonio (AcONH₄) de la determinación de CIC, la cuantificación se realizó por espectrofotometría de absorción atómica, en el equipo Thermo serie S4SN71203 de la unidad de análisis industriales de la Universidad del Cauca.

4.3.2.8 Determinación de microelementos: Correspondientes al Hierro, Cobre, Manganeso y Zinc. Se determinaron por extracción con DTPA (Acido-Dietilen-Triamino-Penta-Acético) y la cuantificación se realizó por espectrofotometría de absorción atómica, en el equipo Thermo[®] serie S4SN71203 de la unidad de análisis industriales de la Universidad del Cauca.

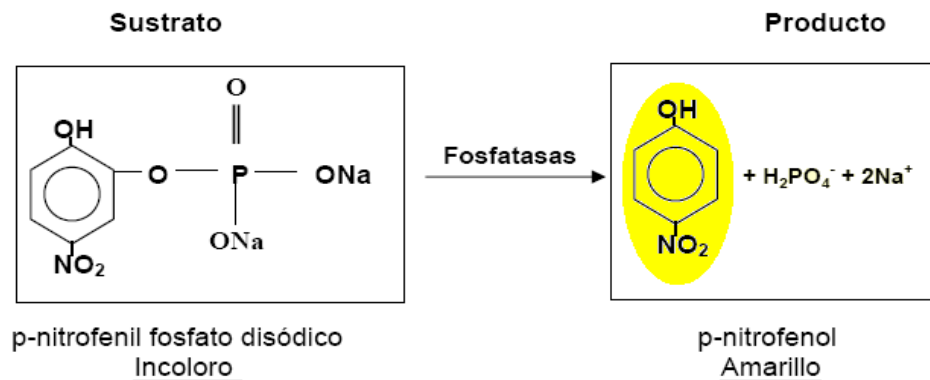
4.3.3 Evaluación del Requerimiento de Cal

Se utilizó como material encalante una solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0.04N. El método consiste en preparar varias suspensiones de suelos a los cuales se le agregan cantidades crecientes de la solución de hidróxido de calcio y se deja establecer el equilibrio para determinar luego el pH por medio del potenciómetro. Se elabora una grafica de pH vs material encalante en toneladas de carbonato de calcio por hectárea de suelo, con el fin de determinar sobre esta la cantidad de material encalante necesaria para obtener un pH óptimo para un suelo fértil^[45].

4.4. ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA EN UN ANDISOL CAUCANO

Con base en el método reportado por Tabatabai y Bremner (1994) se estandarizó el método colorimétrico en el laboratorio de Agroquímica, para medir la actividad de la Fosfatasa ácida empleando como sustrato p-nitrofenilfosfato 0.05M a pH 6.5, el cual por acción de la enzima se convierte en p-nitrofenol (p-NF) y ácido fosfórico, en un tiempo de incubación a 37°C [1], [46], [47]. La reacción de las enzimas fosfatasas con el p-nitrofenol se observa en la figura 7.

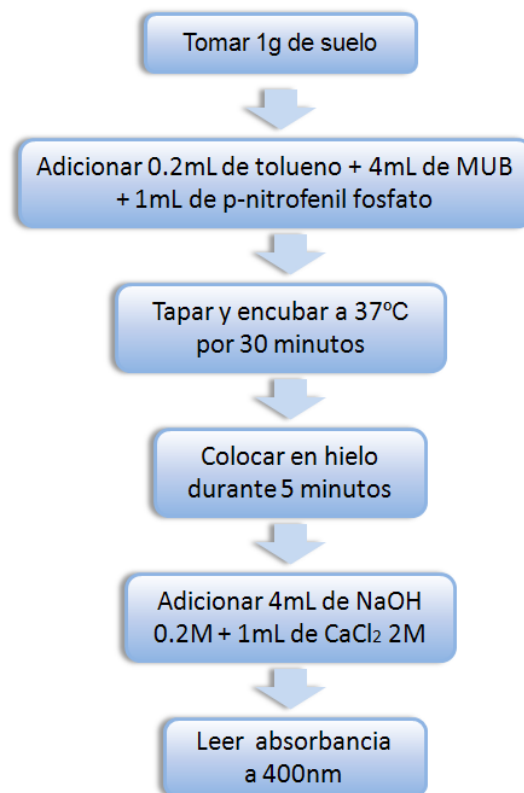
Figura 7. Reacción enzimática para la determinación de la actividad de la Fosfatasa ácida



Se realizaron algunas modificaciones en el método de extracción como:

- Reducción del tiempo de incubación a 30 minutos para evitar el crecimiento microbiano y una sobreestimación de la actividad de la fosfatasa, se recomienda esta modificación en suelos con una alta actividad [1].
- Incremento de la concentración de cloruro de calcio a 2M de modo que el calcio esté en la cantidad suficiente para complejar toda la materia orgánica extraída [47].
- También es necesario disminuir la concentración del hidróxido de sodio a 0.2M ya que en caso contrario se formarían precipitados de hidróxido de calcio que afectarían la determinación de la actividad [47]. El resumen del proceso de extracción se observa en la figura 8.

Figura 8. Diagrama del proceso de extracción para la determinación de la Fosfatasa ácida.



Se realizó una curva de calibración con p-nitrofenol, en diferentes concentraciones que se ajusten a la Ley de Beer, utilizando un Espectrofotómetro Génesys 20[®]. Se determinó la linealidad, la precisión en términos de reproducibilidad (realizando la curva de calibración 5 veces el

mismo día); la precisión intermedia (realizando la curva de calibración adecuada en 5 días diferentes) y reproducibilidad (aplicando la metodología con la misma muestra por otros analistas).

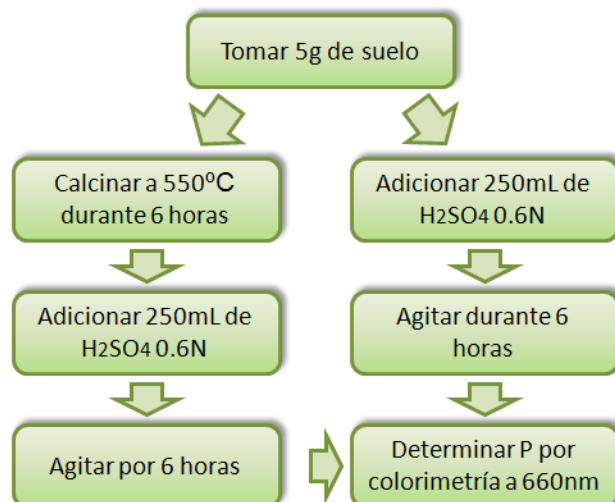
4.5. EVALUACIÓN DEL FOSFORO DISPONIBLE, ORGÁNICO Y FOSFORO TOTAL

Se realizó un seguimiento mensual del contenido de fósforo en sus diferentes formas con el fin de observar la correlación que existe con el encalado y la actividad de la fosfatasa acida en el suelo bajo estudio.

4.5.1 Fósforo disponible: se determinó por el método de Bray II, utilizando 20mL de una solución extractora, se agitó por 40 segundos e inmediatamente después se filtró, se tomó una alícuota de 2 mL y se adicionó 18 mL de una solución coloreadora de $\text{HCl}-(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y luego de 15 minutos se determinó por colorimetría a una longitud de onda de 660nm, utilizando un equipo espectrofotómetro visible Genesys 20[®] [45].

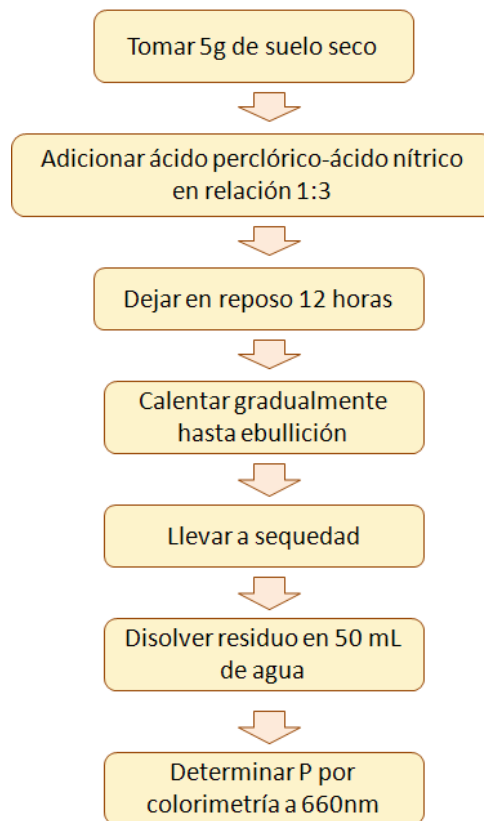
4.5.2 Fósforo orgánico: se determinó por calcinación del suelo a 550° C durante 6 horas, una vez calcinado se adicionó ácido sulfúrico 0.6N y se agitó por 6 horas. Se tomó una alícuota de 2 mL y se adicionó 18 mL de solución coloreadora. Se aplicó el mismo procedimiento a una muestra sin calcinar, se cuantificó por el método colorimétrico usando curva de calibración y por diferencia entre las dos extracciones se determinó el P orgánico [48]. El diagrama del proceso se muestra en la figura 9.

Figura 9. Diagrama del proceso para la determinación de fósforo orgánico



4.5.3 Fósforo total: se determinó por digestión del suelo con una mezcla de ácido perclórico/ ácido nítrico en relación 1:3, se calentó suavemente hasta llevar a sequedad y posteriormente se llevó hasta un volumen final de 50mL con agua destilada. Se tomó una alícuota de 2 mL, se adicionó 18 mL de solución coloreadora y pasados 15 minutos se determinó por el método colorimétrico a una longitud de onda de 660nm en el equipo Espectrofotómetro visible Genesys 20[®] [45]. El resumen del proceso se muestra en la figura 10.

Figura 10. Diagrama del proceso para la determinación de fósforo total

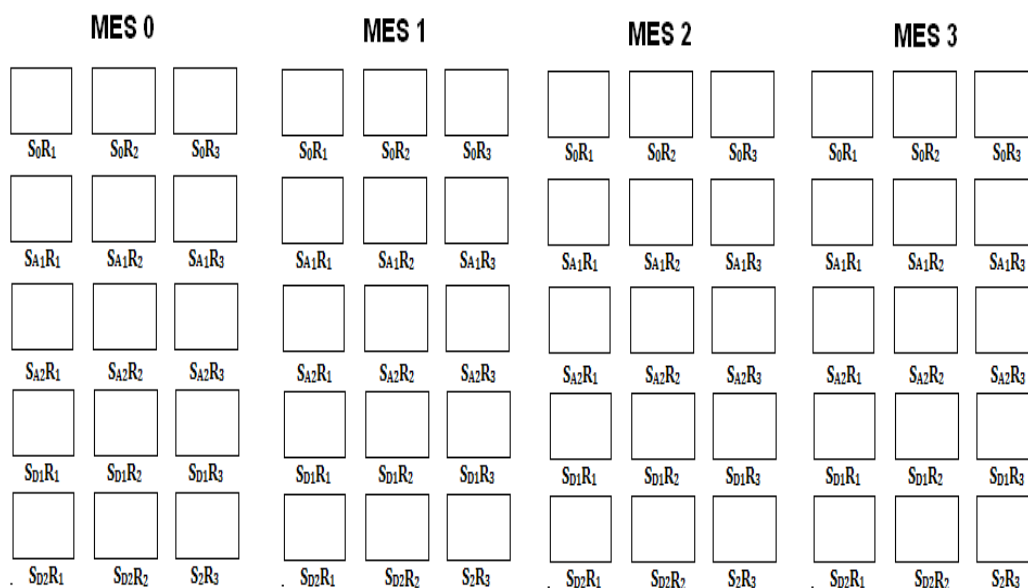


4.6. EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA.

Para evaluar el efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida, se utilizó un diseño experimental factorial de bloques, donde el factor

o variable independiente fue la cal con dos niveles, proveniente de dos fuentes: **cal Dolomita** y **cal Agrícola**, con dos dosis cada una, con cuatro períodos de incubación y tres réplicas por tratamiento, incluyendo un testigo absoluto el cual no tienen ninguna cal, para un total de 60 tratamientos. Las variables dependientes fueron la actividad de la Fosfatasa ácida, el P disponible y el P orgánico. Se utilizó el método en paralelo. En la figura 11 se relaciona el diagrama correspondiente.

Figura 11. Diagrama de diseño experimental para evaluar el efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida.



S₀: suelo sin cal; **S_{A1}:** suelo con 1 dosis de Cal Agrícola; **S_{A2}:** suelo con 2 dosis de Cal Agrícola. **S_{D1}:** suelo con 1 dosis de Cal Dolomita; **S_{D2}:** suelo con 2 dosis de Cal Dolomita. **R₁:** Réplica 1; **R₂:** Réplica 2; **R₃:** Réplica 3.

5. ANALISIS DE RESULTADOS

5.1 ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL SUELO

En la tabla 2 se presenta los resultados de los análisis físicos y químicos realizados a la muestra de suelo en esta investigación. Para la interpretación de los resultados se utiliza como patrón de referencia, los datos reportados por Silva^[49], (Anexo 1).

Tabla 2. Análisis Físicos y Químicos del suelo

PROPIEDADES FÍSICAS									
SUELO	HUMEDAD HIGROSCOPICA (%)			DENSIDAD (g/mL)	GRANULOMETRÍA			TEXTURA	
					% Arenas	% Arcillas	% Limos		
ANDISOL	14,09			0,95	73,51	8,01	18,47	FRANCO ARENOSA	
PROPIEDADES QUÍMICAS									
pH	%Corg	% M.O	% N	P (ppm)	C/N	Acidez Intercambiable meq/100g suelo	Al ³⁺ intercambiabl e meq/100g suelo	H ⁺ intercambiable meq/100g suelo	Capacidad de Intercambio meq/100g suelo
4,87	8,51	14,67	0,74	7,01	11,5	0,992	0,668	0,324	35,37
BASES DE CAMBIO									
Calcio meq/100g	Magnesio meq/100g	Sodio meq/100g	Potasio meq/100g	Ca/Mg	Capacidad de intercambio Efectiva meq/100g suelo				
0,224	0,085	0,055	0,218	2,63	1,57				
MICROELEMENTOS									
Hierro (mg/Kg suelo)	Cobre (mg/Kg suelo)			Manganeso (mg/Kg suelo)			Cinc (mg/Kg suelo)		
2,652	0,612			2,613			0,311		

La zona rural del municipio de Cajibío (Departamento del Cauca), se caracteriza por presentar suelos con una humedad alta. El suelo proveniente de este municipio es de color negro, presenta un porcentaje de humedad higroscópica de 14,09%, inferior al rango óptimo, un bajo contenido de arcillas, partículas menores de 2 μm , indicando que la retención de humedad se puede atribuir al alto contenido de materia orgánica, detectado en este suelo. El valor de la densidad aparente es de 0,95 g/mL, indicando un suelo de rango bajo a normal influenciado por el alto contenido de materia orgánica.

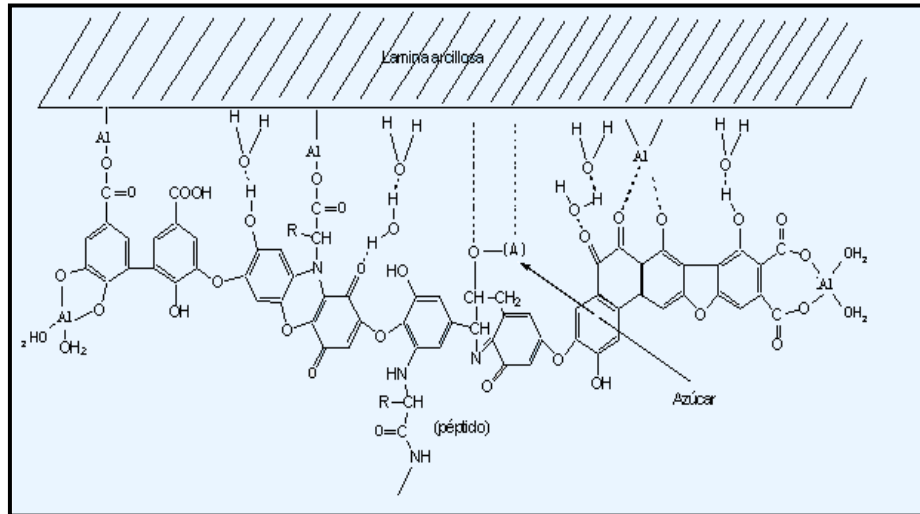
El pH 4,87 determinado en la suspensión suelo-agua, clasifica este suelo como muy fuertemente ácido. Esto influye en la disponibilidad de muchos nutrientes para la planta; a este pH, se favorece la adsorción de nutrientes como fósforo, boro, azufre y molibdeno en la fase coloidal, ya que pueden intercambiarse aniónicamente puesto que se favorece la capacidad de intercambio aniónico. Además se puede presentar lavado de nutrientes como el Ca, Mg o K, lo cual se confirma con el bajo valor de CIC efectiva que es menor de 4, valor por debajo del cual indica un fuerte lavado de nutrientes en general. Se favorece la disponibilidad de nutrientes como Fe y Mn, también se puede incrementar la cantidad de aluminio intercambiable.

La acidez intercambiable es ocasionada por el hidrógeno y el aluminio de cambio, en este caso, se considera como un valor bajo. De igual forma, el Al intercambiable está en un rango bajo, no presentando toxicidad ni para el suelo ni para las plantas.

El porcentaje de saturación del Aluminio es medio y de esta manera, se puede ver disminuida la fertilidad de este suelo, ya que puede afectar la retención de las bases de cambio, como se observa en la tabla 2 y como se mencionó anteriormente el fuerte lavado de ellas, las saturaciones de cada una de estas bases son inferiores a la saturación de Al, indicando que predominan en los sitios de intercambio los iones Al y que en cualquier momento pueden pasar a la solución del suelo aumentando el nivel del intercambiable y así se vuelve tóxico para ambos sistemas (suelo y plantas). Sin embargo, es probable que el alto valor de MO presente en este suelo retenga fuertemente el Aluminio que pasa a la solución del suelo por medio de los grupos carboxílicos y fenólicos del humus, impidiendo que pase a la fase coloidal o a la solución del suelo de acuerdo a la figura 12.

Por lo tanto, la acidez se atribuye principalmente a la MO, la cual puede disociar y liberar iones H^+ .

Figura 12. Reacción del Aluminio con los grupos carboxílicos y fenólicos del humus



La capacidad de intercambio catiónico presenta un valor de 35,37 meq/100 de suelo, un valor alto atribuido principalmente al alto contenido de MO. En los suelos ácidos, la determinación más apropiada, es la suma de las bases de cambio y de la acidez de cambio; esta capacidad de cambio se denomina real o efectiva y este suelo presenta un valor de 1,57 indicando un fuerte lavado de cationes, de tal manera que los contenidos de Ca y Mg son muy bajos, lo mismo que sus saturaciones. El nivel de K se encuentra en el rango normal para éstos suelos, entre 0.15 y 0.30 meq/100g suelo y proviene de las arcillas presentes en el suelo. El valor 2,63 de la relación Ca/Mg está dentro de los límites requeridos para los suelos agrícolas (2-5). Estas bases son tan necesarias para la planta que se absorben con rapidez, provocando el descenso de este nutriente en el suelo lo cual puede deberse a la continua extracción por parte de los cultivos sin su debida reposición.

El porcentaje de nitrógeno total presente en el suelo es de 0,746%, aún cuando el porcentaje de nitrógeno es alto, proveniente del alto nivel de MO, no se puede asegurar su alta disponibilidad para la absorción por las plantas, debido a que ese valor incluye tanto el nitrógeno en forma orgánica como inorgánica. La forma orgánica que representa casi la totalidad del nitrógeno en el suelo no puede ser utilizada por la planta mientras no se transforme previamente en nitrógeno inorgánico, mediante una serie de procesos fundamentalmente de tipo bioquímico, en los cuales influyen factores tales como la temperatura, el pH y la humedad.

La valor de la relación C/N (11,19) para este suelo indica un proceso normal de mineralización, los microorganismos trabajan adecuadamente en la degradación de la materia orgánica, aunque el nitrógeno posee un valor elevado no implica que esté disponible, generando por ende una fuente de energía baja para ellos y posiblemente influirá negativamente en el proceso de humificación de la MO ocasionando así fuerte acidez al suelo con consecuencias negativas de fertilidad.

El suelo presenta un bajo contenido de fósforo disponible (7.01 ppm), atribuible a la fuerte acidez, siendo posible que esté intercambiado aniónicamente o precipitado en forma de fosfatos de Al y de Fe. El alto nivel de Materia Orgánica genera acidez favoreciendo así la retención de P en el suelo. Esta retención también se puede atribuir quizás a la presencia de alófanos en este suelo, según muestra sus propiedades físicas y químicas tales como: la alta retención de humedad, la fuerte acidez y probablemente la baja densidad, formando el complejo humus-aluminio- P.

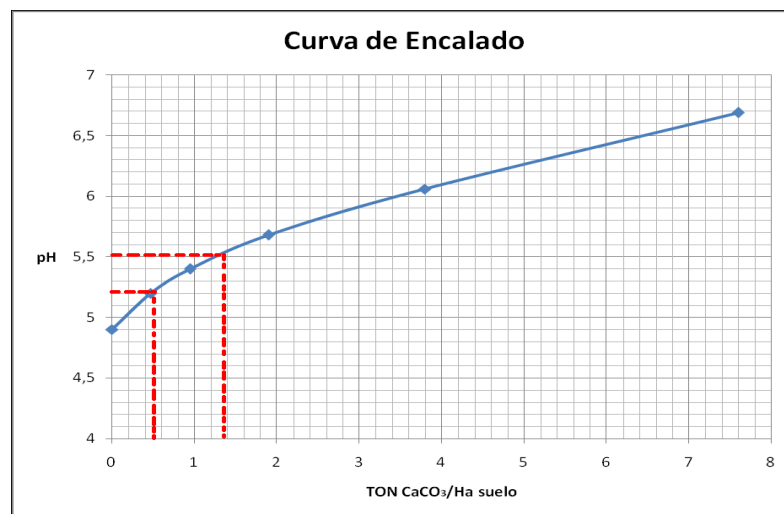
Los elementos menores Fe, Cu, Mn y Zn se encuentran en cantidades bajas en este suelo. Debido a la fuerte acidez pueden ser lavados produciendo contaminación de aguas. También pueden sufrir proceso de fuerte quelatación por parte de la MO evitando así su disponibilidad para las plantas.

5.2 REQUERIMIENTO DE CAL

Se seleccionaron dos tipos de cal de uso comercial en el departamento del Cauca para la investigación: cal Agrícola con una composición de 70% de CaCO_3 y cal Dolomita cuya composición es de 55% de CaCO_3 y 34% de MgCO_3

Se evaluó el requerimiento de cal necesario para ajustar el pH del suelo en el rango óptimo de cultivo de café (5.2 y 5.5) y con base en esto se seleccionaron las dosis necesarias de cal para la cantidad de suelo utilizada en el experimento.

Figura 13. Curva de requerimiento de cal del suelo



El requerimiento de cal arroja la necesidad de aplicar 2,14 y 2,73 Toneladas de cal Agrícola y cal Dolomita respectivamente por hectárea para ajustar el pH a 5,5. Sin embargo en la evaluación del ensayo en el tiempo cero no fue posible obtener este valor de pH con dichas dosis, por esta razón se decidió aplicar el equivalente

a 9,5 y 10,9 Toneladas de cal Agrícola y cal Dolomita respectivamente en una hectárea de suelo, dosis con las cuales se ajustó el pH y se calculó el requerimiento de cada una de las cales en cien gramos de suelo. Los resultados se observan en la tabla 3.

Tabla 3. Dosis de las cales determinadas mediante el requerimiento de cal

DOSIS	CAL AGRICOLA	CAL DOLOMITA
Dosis 1 (pH 5.2)	0,5 g/100 g suelo	1,0g/ 100 g suelo
Dosis 2 (pH 5.5)	1,0g/100 g suelo	2,0g/100 g suelo

Una vez determinadas las dosis de cal se incubó el suelo y se realizó un seguimiento mensual de la actividad de la Fosfatasa ácida, el pH, el P orgánico, P disponible y P total.

5.3 ESTANDARIZACIÓN DEL METODO COLORIMÉTRICO UTILIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA.

Los parámetros utilizados para la estandarización fueron los siguientes:

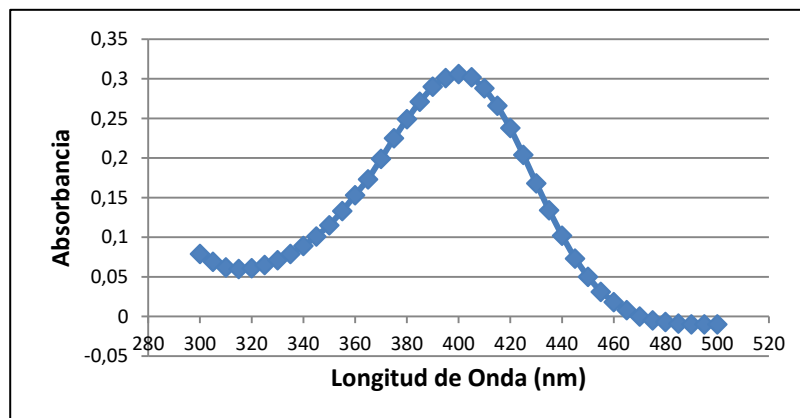
5.3.1. VALIDACIÓN DEL SISTEMA INSTRUMENTAL.

El sistema instrumental empleado consistió en un espectrofotómetro UV-vis (Genesys 20®) ubicado en el Laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca.

5.3.1.1 Selección de la longitud de onda de máxima absorbancia

La longitud de onda empleada fue de 400 nm, obtenida como máxima absorbancia de un barrido previo entre 300 y 500 nm a una solución patrón de p-nitrofenol de 5 mg/mL. Obteniendo el espectro ilustrado en la figura 14.

Figura 14. Espectro de absorción de una solución patrón de p-nitrofenol (5 mg /L).



5.3.1.2 Preparación de la Curva de Calibración:

A partir de una solución patrón de p-nitrofenol de 1000 mg/L, se prepararon las siguientes soluciones patrón en balones aforados de 100 mL, empleando para cada concentración los volúmenes de solución patrón de p-nitrofenol especificados en la siguiente tabla.

Tabla 4. Preparación de la curva de calibración de p-nitrofenol

NIVEL DE CONCENTRACIÓN	Volumen de Solución patrón (mL)	Concentración (mg p-nitrofenol/L Solución)
1	1,0	10,0
2	3,0	30,0
3	5,0	50,0
4	7,0	70,0
5	9,0	90,0
6	12,0	120,0

Se adicionó una alícuota de 1 mL de cada una de las soluciones de la curva de calibración a erlenmeyers de 50 mL. Posteriormente se agregó 1 mL de cloruro de calcio 2 M, 4 mL de hidróxido de sodio 0,2 N y 4 mL de agua, se agitó por 1 min y se filtró. A continuación se tomó una alícuota de los sobrenadantes y se midió la absorbancia a 400 nm. Con los resultados obtenidos se realizó una grafica relacionando la concentración del p-nitrofenol de cada solución (Tabla 4) respecto a los valores de absorbancia correspondientes a cada nivel de concentración.

La validación del sistema instrumental descrito anteriormente se llevó a cabo con curvas de calibración de p-nitrofenol en agua destilada. Se evaluó la linealidad, precisión en términos de precisión intermedia y límites críticos, para ello se aplicaron pruebas estadísticas como análisis de varianza (ANOVA) y correlación de Pearson, empleando el software estadístico SPSS® (Versión 11.5.1).

5.3.1.3 Linealidad Instrumental:

Se evaluaron 6 niveles de concentración durante 5 días diferentes. Se preparó una curva de calibración por día, la cual se sometió al método descrito en el numeral 5.3.1.2. Los resultados se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental

[] ppm PNF	Abs (Dia 1)	Abs (Dia 2)	Abs (Dia 3)	Abs (Dia 4)	Abs (Dia 5)	Promedio	Desviación	%C.V
1	0,116	0,107	0,118	0,118	0,109	0,114	0,005	4,599
3	0,371	0,338	0,371	0,359	0,367	0,361	0,014	3,838
5	0,601	0,610	0,574	0,568	0,589	0,588	0,018	3,003
7	0,838	0,825	0,836	0,860	0,810	0,834	0,018	2,206
9	1,079	1,068	1,062	1,107	1,089	1,081	0,018	1,651
12	1,472	1,502	1,478	1,522	1,488	1,492	0,020	1,345

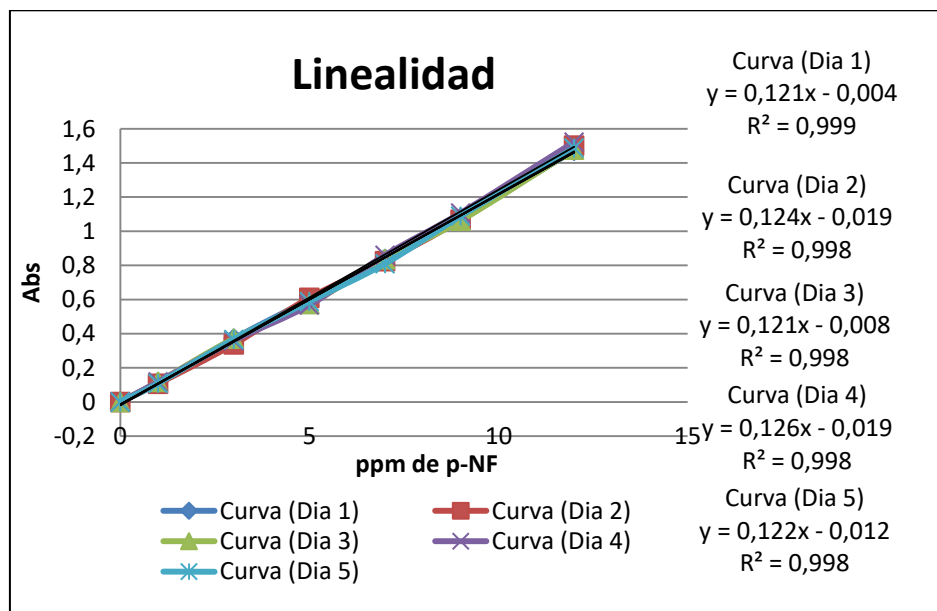
Se evaluó la normalidad de los datos aplicando el test de Shapiro-Wilk, encontrando que los resultados provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística superior a 0,05 (Tabla 6). La normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Tabla 6. Prueba de normalidad para los resultados de linealidad instrumental

Nivel de concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
Absorbancia	1,000	0,824	5 0,124
	2,000	0,802	5 0,084
	3,000	0,949	5 0,730
	4,000	0,978	5 0,922
	5,000	0,960	5 0,810
	6,000	0,945	5 0,703

La tendencia de los datos se evaluó a través de un grafico relacionando la absorbancia respecto a la concentración en mg/L, la grafica obtenida se muestra en la figura 15, donde se observa la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar una ecuación lineal que relaciona la concentración de p-nitrofenol con la absorbancia.

Figura 15. Curva de calibración de p-nitrofenol.



Se calcularon los valores de pendiente, intercepto, coeficiente de correlación y sus correspondientes desviaciones estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Evaluación de la linealidad instrumental

PARAMETRO	SIMBOLO	VALOR
Coefficiente de Correlación	r	0,9982
Pendiente	B	0,1228
Intercepto	A	0,0124
Desviación Estándar para el intercepto	S _a	0,0222
Desviación Estándar para la pendiente	S _b	0,0296

El coeficiente de correlación se evaluó estadísticamente teniendo como hipótesis nula: "No existe correlación entre x e y". Como se observa en la tabla 8 la prueba es significativa (Sig. 0,000), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación significativa entre la concentración de p-nitrofenol y la respuesta brindada por el equipo (absorbancia).

Tabla 8. Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Pearson.

		Nivel de Concentración	Absorbancia
Nivel de Concentración	Correlación de Pearson	1	0,999(**)
	Sig. (bilateral)	.	0,000
	N	30	30
Absorbancia	Correlación de Pearson	0,999(**)	1
	Sig. (bilateral)	0,000	.
	N	30	30

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Para evaluar estadísticamente la pendiente y el intercepto se plantearan las siguientes hipótesis:

- Para la pendiente se tiene como H_0 : “b no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.
- Para el intercepto se tiene como H_0 : “a no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.

Como se observa en la tabla 9, la significancia estadística tanto para la pendiente como para el intercepto son inferiores a 0,05, por lo que se deben rechazar las hipótesis nulas, y concluir que la pendiente y el intercepto son significativamente diferentes de cero.

Tablas 9. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	T	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
		B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1	Intercepto	-0,210	0,008		-2,775	0,010	-0,370	-0,006
	Pendiente	0,124	0,001	0,999	115,979	0,000	0,122	0,126

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, los resultados se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración.

Modelo		Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	6,243	1	6,243	13451,095	0,000(a)
	Residual	0,013	28	0,000		
	Total	6,256	29			

a Variables predictoras: (Constante), Nivel de Concentración

Para evaluar la regresión se tiene hipótesis nula: “No hay regresión significativa en la curva de calibración ($R^2 = 0$)”, y como hipótesis alternativa “Hay regresión significativa en la curva de calibración ($R^2 \neq 0$)”. Como se observa en la tabla 10, la significancia para la regresión es menor de 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, concluyendo que existe regresión significativa en la curva de calibración.

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad permiten concluir que el método instrumental empleado es lineal en el rango entre 1,00 mg/L y 12,00 mg/L, con una coeficiente de correlación equivalente 0,998.

5.3.1.4 PRECISIÓN: Se evaluó la precisión del método colorimétrico en términos de repetibilidad y precisión intermedia.

- **Repetibilidad:** Se evaluó realizando cinco curvas de absorbancia del p-nitrofenol el mismo día. Los resultados se observan en la tabla 11.

Tabla 11. Repetibilidad del método colorimétrico

[] ppm PNF	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs 4	Abs 5	Promedio	Desviación \pm SD	% C.V
1	0,102	0,105	0,100	0,105	0,112	0,105	0,005	4,341
3	0,310	0,314	0,335	0,316	0,330	0,321	0,011	3,384
5	0,617	0,620	0,608	0,625	0,640	0,622	0,012	1,899
7	0,850	0,861	0,868	0,870	0,890	0,868	0,015	1,690
9	1,137	1,143	1,125	1,160	1,230	1,159	0,042	3,593
12	1,505	1,497	1,490	1,490	1,530	1,502	0,017	1,006

Los resultados muestran que los valores de absorbancia son repetibles para una misma concentración en cada una de las cinco curvas, ya que los datos presentan una baja desviación y bajos coeficientes de variación, en todos los casos inferiores a 7, aceptado como máximo para repetibilidad de un método ^{[50],[51]}, lo que asegura

que el método analítico reporte datos con adecuado y comprobable grado de confianza y buena repetibilidad porque los %CV son bajos.

- **Precisión Intermedia:** Se evaluó realizando una curva de calibración en cinco días diferentes. Los resultados se observan en la tabla 12.

Tabla 12. Precisión intermedia del método colorimétrico

[] ppm PNF	Abs (Dia 1)	Abs (Dia 2)	Abs (Dia 3)	Abs (Dia 4)	Abs (Dia 5)	Promedio	Desviación ±SD	%C.V
1	0,116	0,107	0,118	0,118	0,109	0,114	0,005	4,599
3	0,371	0,338	0,371	0,359	0,367	0,361	0,014	3,838
5	0,601	0,610	0,574	0,568	0,589	0,588	0,018	3,003
7	0,838	0,825	0,836	0,860	0,810	0,834	0,018	2,206
9	1,079	1,068	1,062	1,107	1,089	1,081	0,018	1,651
12	1,472	1,502	1,478	1,522	1,488	1,492	0,020	1,345

Igual que en el caso anterior, se aprecia una adecuada precisión en los datos, manifestada en la baja desviación y en los bajos coeficientes de variación.

5.3.1.5 EXACTITUD: Se evaluó con los porcentajes de recuperación obtenidos a partir de la relación entre la concentración experimental de los patrones de cada nivel de la curva de calibración y la concentración teórica de los mismos utilizando la siguiente ecuación: Los resultados se reportan en la tabla 13 y provienen de la interpolación en la curva de calibración reportada en la figura 15.

Tabla 13. Exactitud del método colorimétrico empleado para la determinación de la Fosfatasa ácida

NIVEL	N1	N2	N3	N4	N5	N6
Concentración Teórica (ppm)	1,00	3,00	5,00	7,00	9,00	12,00
Concentración Experimental (ppm)	0,94	2,81	4,98	7,03	9,07	11,98
% Recuperación	94,0	93,7	99,6	100,4	100,7	99,8

$$\%R = (C_c / C_f) \times 100$$

C_c = Concentración experimental obtenida al interpolarla respuesta en la curva de calibración

C_f = Concentración teórica al nivel seleccionado

Se observa que los porcentajes de recuperación son altos, en todos los casos superiores al 90%, indicando que el método es exacto

5.3.1.6 LIMITES CRITICOS: Se evaluó los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) del equipo para la metodología empleada, teniendo en cuenta las siguientes ecuaciones y los datos de la tabla 5 obteniendo los valores de pendiente y de intercepto a partir de las figura 15.

$$LOD = \frac{3 s_{interceptos}}{m_{prom}} \quad LOQ = \frac{10 s_{interceptos}}{m_{prom}}$$

Donde:

$s_{interceptos}$ es la desviación estándar de los interceptos
 m_{prom} es el promedio de las pendientes

Tabla 14. Límites críticos del método colorimétrico empleado para la determinación de la Fosfatasa ácida

Curva	Pendiente	Intercepto	$S_{intercepto}$	$m_{promedio}$	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
1	0,127	-0,028				
2	0,127	-0,023	0,0035	0,1276	0,0084	0,2800
3	0,126	-0,019				
4	0,127	-0,021				
5	0,131	-0,020				

En la tabla 14, se observa que el límite de detección es considerablemente bajo, igualmente el límite de cuantificación inferior a 0.5, indicando un método suficientemente sensible y utilizable para suelos con actividades bajas.

5.4 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA COMO INDICADOR DE LA CALIDAD DE UN ANDISOL Y SOBRE OTROS PARÁMETROS DEL SUELO

Con el propósito de evaluar el efecto producido por el encalamiento sobre la calidad del suelo, se seleccionó como indicador bioquímico la actividad de la Fosfatasa ácida, debido a que el suelo seleccionado es fuertemente ácido y presenta serias deficiencias de fósforo, para lo cual los agricultores aplican altas y repetidas dosis de diferentes cales, afectando de esta manera su calidad a largo tiempo.

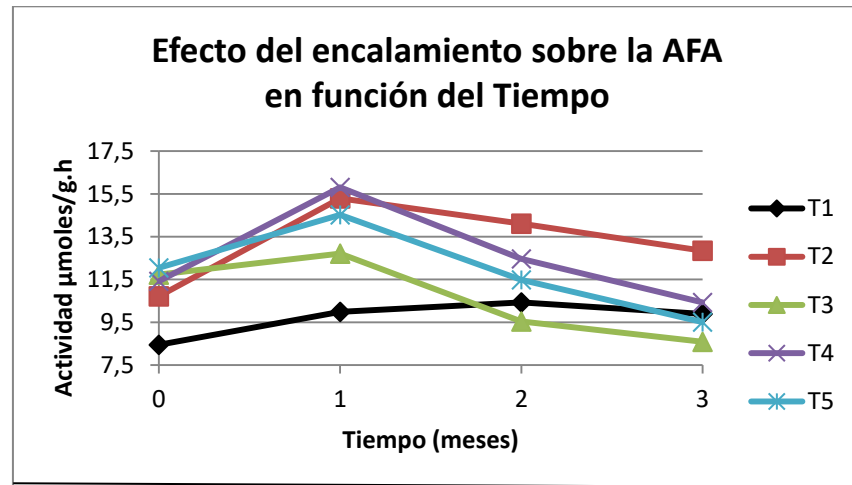
Una manera de evaluar ese efecto es a través de indicadores bioquímicos como el mencionado anteriormente de acuerdo a Tabatabay ^[1]. Cuando se altera la actividad de la Fosfatasa ácida en estos suelos, se detectan cambios en los contenidos de P como se aprecia en este análisis. Por tanto se evaluaron conjuntamente otros parámetros como pH, P total, P orgánico, P disponible.

Se evaluó de esta manera, la actividad de la Fosfatasa ácida y de otras variables: fósforo en sus diferentes formas y el pH del suelo, realizando un seguimiento durante un período de tiempo de cuatro meses en forma mensual para observar el efecto del encalamiento con diferentes dosis sobre todas las variables. Los tratamientos corresponden a las cales aplicadas. Como testigo se utiliza un suelo sin aplicación de cal correspondiente al tratamiento T1 Las cales utilizadas fueron: cal Agrícola en dosis de 0.5 g /100g suelo y 1 g/100g suelo, correspondientes a los tratamiento T2 y T3 respectivamente. Cal Dolomita en dosis de 1g/100 g suelo y 2 g/ 100g suelo correspondiente a los tratamientos T4 y T5 respectivamente. Estas dosis fueron seleccionadas con base a la curva de encalamiento representada en la figura 13 y tabla 3 de donde se obtuvo la dosis necesaria para elevar el valor del pH a 5.2 y 5.5 apropiados para el cultivo de cafeto en la zona de estudio. Los resultados se observan en la tabla 15 y en la figura 16.

Tabla 15. Efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida

Tratamiento	Actividad Tiempo 0	Actividad Tiempo 1	Actividad Tiempo 2	Actividad Tiempo 3
T1 = Suelo Testigo	8,4430	9,9860	10,432	9,8930
T2 = Cal Agrícola Dosis 1	10,716	15,289	14,106	12,844
T3 = Cal Agrícola Dosis 2	11,731	12,713	8,6530	8,0370
T4 = Cal Dolomita Dosis 1	11,419	15,806	12,466	10,431
T5 = Cal Dolomita Dosis 2	12,041	14,521	11,483	9,508

Figura 16. Efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida en función del tiempo.



En la figura 16, se observa que inicialmente la AFA es superior en el suelo con todos los tratamientos de encalamiento, indicando que las cales aplicadas en diferentes dosis producen un incremento de dicha actividad, atribuible al mejoramiento en las condiciones de reacción del suelo, como se detecta por el incremento en el valor de su pH (Tabla 17, Figura 17). El incremento de dicha actividad producido por el tratamiento T5 en el tiempo cero, es ligeramente superior al producido por los tratamientos T4 y T3.

En el suelo testigo (T1) la AFA presenta un ligero incremento, en función del tiempo, (Figura 16) atribuible a la necesidad de la mineralización de P por parte de los microorganismos para su neosíntesis, pero dicho incremento no es considerable debido a las condiciones de fuerte acidez. Sin embargo la estadística demuestra que la AFA del tiempo 2 no difiere significativamente de la del tiempo 3 y esta a su vez de la del tiempo 1, pero si existen diferencias significativas entre la AFA del tiempo 2 y los tiempos 0 y 1. (Anexo 2, Tabla 13)

La Prueba de Normalidad aplicada (Anexo 2, Tablas 7 y 8) muestra que algunos datos se ajustan a la normalidad pero otros no. Por lo tanto se decide aplicar tanto pruebas paramétricas como no paramétricas para realizar su debida interpretación.

La prueba paramétrica aplicada (Anexo 2, Tabla 11) ANOVA de un factor para tratamientos muestra que la AFA, P disponible y el pH presentan diferencia significativa entre los tratamientos en función del tiempo (sig 0,000 en ambos casos). Las otras variables no presentan diferencia significativa (sig >0,05).

Para saber si en la variable AFA los tratamientos son diferentes significativamente, se aplica la prueba de comparaciones múltiples para la variable tratamientos (Anexo 2, Tabla 12) con el propósito de comparar la AFA de los diferentes

tratamientos en función del tiempo. Los resultados muestran que hay diferencia significativa entre la AFA proveniente de suelo con las diferentes cales, en todo el tiempo del ensayo. Esta prueba también muestra que los valores de la AFA son significativamente superiores en el suelo con los tratamientos T2, T4 y T5 con respecto a la actividad del suelo testigo T1, sin existir diferencia entre las actividades del testigo y T3.

Lo anterior indica que la actividad se incrementa con el encalamiento sin importar el tipo de cal ni la dosis, confirmando que este efecto es atribuido al incremento en el valor del pH hasta un valor óptimo del cual se depende el mejoramiento de las condiciones necesarias para que dicha enzima pueda incrementar su actividad.

Transcurrido un mes de suministradas las cales, se observa que hay un incremento apreciable en la AFA en todos los tratamientos con aplicación de cal, siendo superior este incremento cuando se aplican las dos cales con la menor dosis (T2 y T4), nuevamente se puede explicar este fenómeno por los valores de pH alcanzados con estas dosis y se podría deducir que el rango óptimo para la máxima actividad de esta enzima está comprendido entre 5.7 y 6.4, a partir del cual empieza nuevamente a decrecer dicha actividad. (Figura 16).

Después de 2 y 3 meses del encalamiento se observa (Figura 16) un decrecimiento de la AFA en todos los tratamientos con cal, posiblemente porque los microorganismos ya tomaron el P necesario para su metabolismo y por lo tanto no necesitan mineralizar más P, además, el valor de pH en este tiempo aumenta posiblemente a valores superiores al del óptimo para la actividad. Igualmente se observa un decrecimiento en dicha actividad después de tres meses de aplicada las cales.

El mayor descenso se observa en el tratamiento T3 atribuible probablemente al incremento del pH a valores superiores al rango óptimo. Efectos similares relacionan algunos autores donde evalúan el efecto del encalamiento sobre la AFA en suelos Andisoles con características similares al estudiado ^[52].

La prueba estadística aplicada de comparaciones múltiples para la variable tiempo (Anexo 2, Tabla 10), indica que el incremento de la AFA es significativo con respecto a los demás tiempos y se comprueba en la tabla 16 donde se muestra la prueba de Duncan que relaciona los valores de la AFA en los diferentes tiempos en función de los tratamientos. En esta tabla se ilustran dos subconjuntos para la variable tiempo, en los cuales se observa que los valores en el tiempo 1 son significativamente superiores de los demás tiempos, pero que entre ellos no existen diferencias significativas. También se observa tres subconjuntos para la variable tratamientos, en el subconjunto 1 aparecen la AFA correspondiente a los tratamientos: T2, T4 y T5 indicando que son significativamente superiores a las actividades del tratamiento T3 (subconjunto 3) y a su vez ésta es superior a la actividad del testigo (subconjunto 2), lo que significa que la AFA se incrementa significativamente con el encalamiento.

Tabla 16. Prueba de Duncan para actividad de la Fosfatasa ácida

	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = .05		
			2	3	1
Duncan(a)	1	12	9,22843		
	3	12		10,04108	
	5	12			11,89092
	4	12			12,47042
	2	12			12,95985
	Sig.			1,000	1,000
			Subconjunto para alfa = .05		
	Tiempo	N	2	3	1
Duncan(a)	3	15	10,14249		
	2	15	10,80973		
	0	15	10,86987		
	1	15		13,45047	
	Sig.			,343	1,000

Del análisis anterior se puede deducir que el efecto de la cal agrícola sobre la AFA es mejor con la menor dosis, probablemente porque con ésta se induce a menor deficiencia de Mg. La relación Ca/Mg en la dosis baja aplicada quedaría en 84.70 mientras que con la dosis alta quedaría en 169.41 induciendo a un fuerte desbalance de dicha relación en el suelo, afectando de esta manera las condiciones apropiadas para que los microorganismos suplan sus necesidades nutricionales y de esta manera se afecta su actividad óptima.

Entre las dos dosis de Dolomita se observa mejor efecto con la dosis 1, probablemente debido al mismo efecto sobre la relación Ca/Mg siendo mejor en el caso de la primera dosis, así la estadística no reporte diferencia significativa. Entre los dos tipos de cal sería más recomendable la Dolomita puesto que aporta Mg al suelo para suplir su fuerte deficiencia.

5.5 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE ALGUNOS PARÁMETROS QUÍMICOS DEL SUELO

Para evaluar qué efecto produce el encalamiento con diferentes cales y diferentes dosis sobre las propiedades del suelo se midieron los parámetros de: pH, y las fracciones de P disponible, P orgánico y P total.

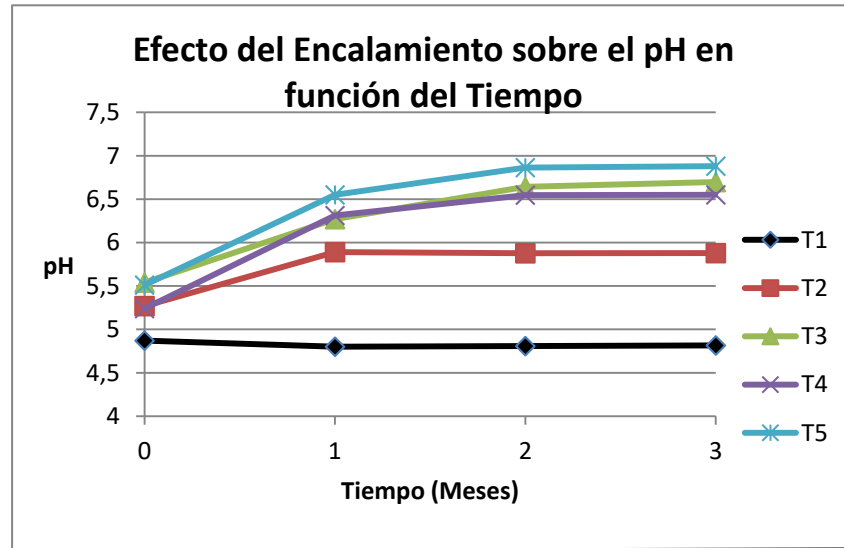
5.5.1. Efecto del encalamiento sobre el valor del pH en función del tiempo

Los resultados se representan en la tabla 17 y figura 17.

Tabla 17. Efecto del encalamiento sobre el pH

Tratamiento	pH Tiempo 0	pH Tiempo 1	pH Tiempo 2	pH Tiempo 3
T1 = Suelo Testigo	4,87	4,80	4,80	4,81
T2 = Cal Agrícola Dosis 1	5,27	5,89	5,87	5,88
T3 = Cal Agrícola Dosis 2	5,54	6,27	6,64	6,69
T4 = Cal Dolomita Dosis 1	5,24	6,31	6,54	6,55
T5 = Cal Dolomita Dosis 2	5,51	6,55	6,86	6,88

Figura 17. Efecto del encalamiento sobre el pH en función del tiempo



Se observa en la figura 17 que en el suelo sin aplicación de cal (T1) hay un ligero descenso del valor del pH en función del tiempo, y como era de esperarse las dos cales incrementan considerablemente su valor durante todo el tiempo del estudio. Además, se observa que el menor efecto lo produce el tratamiento T2. Se observa generalmente un incremento considerable en función del tiempo, indicando que la reacción de dichas cales es lenta y que puede en un momento dado afectar la producción si sigue reaccionando. El análisis estadístico prueba de ANOVA (Anexo 2, Tabla 9) muestra que hay diferencia significativa entre los valores de pH de los diferentes tratamientos (sig = 0.001).

La prueba de comparación múltiple para la variable tratamientos (Anexo 2, Tabla 12) muestra que el suelo sin aplicación de cal presenta valores de pH significativamente inferiores a los valores de los suelos con todos los tratamientos. En la misma tabla se observa que el tratamiento T2 correspondiente a la cal agrícola dosis 1 presenta valor de pH significativamente superior al testigo, e inferior a los demás tratamientos. Además, el análisis de comparaciones múltiples para la variable tiempo (Anexo 2, Tabla 10) indica que los valores de pH para los tratamientos con cal son significativamente superiores en los tiempos 1, 2 y 3 con respecto a las medidas del tiempo 0, además los valores de pH en el tiempo 3 son superiores a los valores en los demás tiempos.

La prueba de Duncan para pH (Tabla 18), confirma que existe diferencias significativas entre los tratamientos con aplicación de cal en sus diferentes dosis con respecto al suelo testigo (sin cal). Además, no existen diferencias significativas entre los tiempos después de un mes de encalamiento pero si las hay en relación con el tiempo cero. De este análisis se deduce que el encalamiento mejora la reacción del suelo y como se mencionó anteriormente, el rango óptimo para la máxima AFA estaría comprendido entre 5.7 y 6.4, valores inferiores o superiores a este rango inducen a una disminución de la actividad.

Tabla 18. Prueba de Duncan para el pH

	Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = .05			
			1	2	3	1
Duncan(a)	1	12	4,8236			
	2	12			5,7233	
	4	12				6,1600
	3	12				6,2875
	5	12				6,4500
	Sig.			1,000	1,000	
	Tiempo	N	2	3	1	
Duncan(a)	0	15		5,2860		
	1	15				5,9647
	2	15				6,1475
	3	15				6,1573
	Sig.				1,000	

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

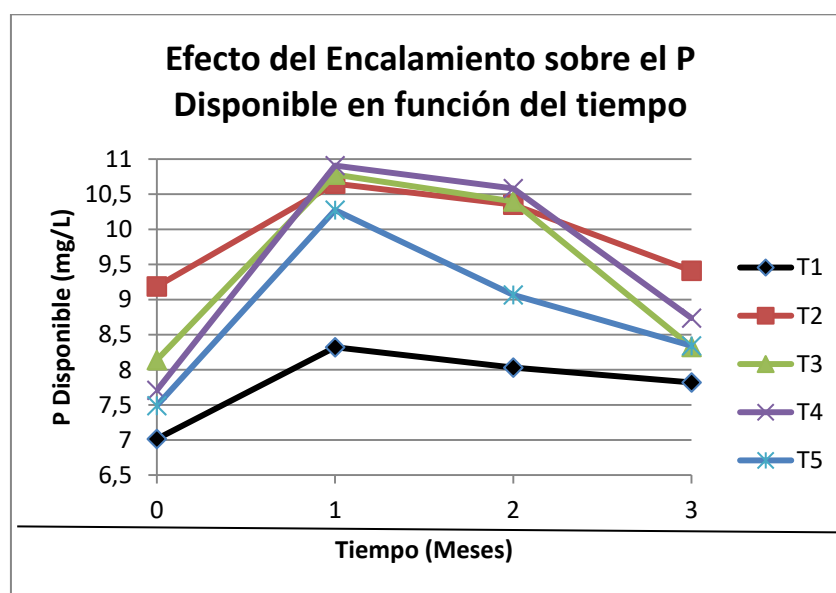
5.5.2. Efecto del encalamiento sobre el valor del P disponible en función del tiempo

Los resultados se representan en la tabla 19 y figura 18.

Tabla 19. Efecto del encalamiento sobre el fósforo disponible

Tratamiento	P disponible Tiempo 0	P disponible Tiempo 1	P disponible Tiempo 2	P disponible Tiempo 3
T1 = Suelo Testigo	7,015	8,321	8,032	7,820
T2 = Cal Agrícola Dosis 1	9,188	10,65	10,351	9,411
T3 = Cal Agrícola Dosis 2	8,139	10,781	10,397	8,325
T4 = Cal Dolomita Dosis 1	7,707	10,907	10,583	8,736
T5 = Cal Dolomita Dosis 2	7,49	10,274	9,067	8,341

Figura 18. Efecto del encalamiento sobre el valor del P disponible en función del tiempo



De la figura 18 se aprecia, que en el tiempo 0 la aplicación de cal de las dos fuentes produce un incremento en el P disponible, siendo superior este efecto con cal Agrícola dosis 1 (T2), como se explicó anteriormente debido al mejoramiento de las condiciones del suelo. Además, se observa un comportamiento del fósforo disponible en función del tiempo, similar al mostrado en el efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida (Figura 16), su incremento es apreciable en el tiempo 1 (30 días de aplicación de la cal) en todos los tratamientos en los que se aplica cal, pero pasado este tiempo

nuevamente disminuye sin llegar al valor inicial. Estos resultados indican que el incremento de la AFA produce un incremento en la disponibilidad del P, puesto que los microorganismos solubilizan P para su neosíntesis, aportando su excedente a la solución del suelo.

La prueba estadística ANOVA de 1 factor (Anexo 2, Tablas 9 y 11) muestra que hay diferencia significativa entre los valores de P disponible de los diferentes tratamientos y diferentes tiempos (sig = 0.000), confirmando que si hay efecto del encalamiento sobre dicha disponibilidad.

En la prueba de comparaciones múltiples para la variable tiempo (Anexo 2, Tabla 10,) se puede comprobar que existen diferencias significativas en los valores de fósforo disponible en los diferentes tiempos, siendo superior el valor correspondiente al tiempo 1 (un mes de encalamiento). También se deduce de esta prueba que el P disponible en el tiempo 3 no es significativamente diferente al correspondiente al tiempo cero, confirmando que el P disponible está siendo utilizado por los microorganismos para su metabolismo y por esto se observa un descenso en su disponibilidad.

En la tabla 20 (prueba de Duncan) se observan 3 subconjuntos (teniendo en cuenta el factor tratamiento), donde se confirma que los valores de los tratamientos con aplicación de cal son significativamente superiores al tratamiento testigo (T1) y que el mayor efecto lo producen los tratamientos T2, T3 y T4, entre los cuales no hay diferencia significativa. Tampoco existe diferencia entre los tratamientos T3 y T4 con el T5.

Tabla 20. Prueba de Duncan para fósforo disponible

		Subconjunto para alfa = .05			
	Tratamiento	N	2	3	1
Duncan(a)	1	12	7,79400		
	5	12		8,79292	
	4	12		9,39983	9,39983
	3	12		9,41033	9,41033
	2	12			9,90000
	Sig.		1,000	0,166	0,262

		Subconjunto para alfa = .05			
	Tiempo	N	2	1	3
Duncan(a)	0	15	7,90773		
	3	15	8,52400		
	2	15		9,68593	
	1	15		10,12000	
	Sig.		0,054	0,172	

Teniendo en cuenta el factor tiempo, la prueba de Duncan muestra dos subconjuntos, siendo significativamente superiores los contenidos de P disponible en los tiempos 1 y 2 como se había deducido anteriormente. No existe diferencia significativa entre los valores correspondientes a los tiempos 0 y 3, indicando nuevamente que al final del ensayo el P solubilizado ha sido consumido por los microorganismos para su metabolismo.

De este análisis se podría deducir que el incremento en la AFA implica un incremento en la disponibilidad de P en el suelo, factor importante si se tiene en cuenta que los suelos ácidos son fuertemente deficientes en este nutriente, de tal manera que el mejoramiento de las condiciones en dichos suelos a través de un encalamiento adecuado, pueden hacer un aporte importante de P para la nutrición de las plantas.

5.5.3. Efecto del encalamiento sobre el valor del P orgánico en función del tiempo

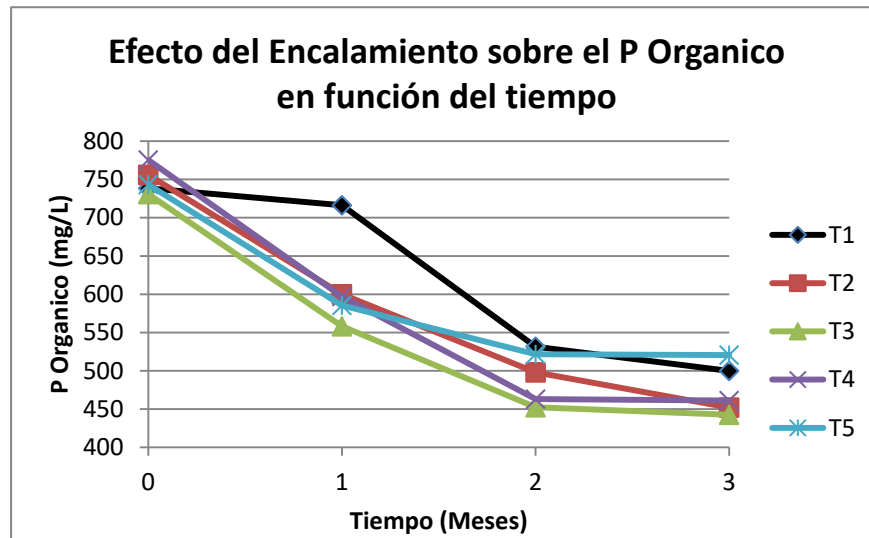
Los resultados se representan en la tabla 21 y figura 19.

Tabla 21. Efecto del encalamiento sobre el fósforo orgánico

Tratamiento	P orgánico Tiempo 0	P orgánico Tiempo 1	P orgánico Tiempo 2	P orgánico Tiempo 3
T1 = Suelo Testigo	738,550	716,241	531,38	499,823
T2 = Cal Agrícola Dosis 1	755,98	600,026	497,900	452,068
T3 = Cal Agrícola Dosis 2	730,87	558,180	452,480	442,416
T4 = Cal Dolomita Dosis 1	775,43	597,182	463,151	461,156
T5 = Cal Dolomita Dosis 2	743,21	585,364	521,643	520,643

En la figura 19 como era de esperarse, se observa una disminución del valor del Fósforo orgánico en función del tiempo en todos los tratamientos, atribuible a la AFA que produce mineralización de dicho P orgánico, comprendida en el proceso de mineralización de la materia orgánica del suelo, como se ha demostrado en este trabajo. El mayor efecto en esta disminución lo ejerce el tratamiento T3. Significando que el encalamiento produce un leve efecto en la disminución del P orgánico, ya que la AFA persiste con o sin encalado.

Figura 19. Efecto del encalamiento sobre el valor del P orgánico en función del tiempo



La prueba estadística ANOVA aplicada a estos resultados teniendo como factor independiente la variable tiempo es significativa (sig= 0.000) indicando que el tiempo sí ejerce efecto en el contenido de P orgánico en todos los tratamientos.

La prueba de comparaciones múltiples para la variable tiempo (Anexo 2, Tabla 10) indica que los valores del P orgánico son significativamente superiores en el tiempo cero respecto a los demás tiempos, corroborando que sí hay mineralización de P orgánico. También muestra que en el tiempo 3 los valores son significativamente inferiores a todos los tiempos con excepción del tiempo 2, de donde se podría inferir que a los 60 días termina el proceso de mineralización en las condiciones del ensayo. Esta afirmación se corrobora con la prueba de Duncan (Tabla 22).

Tabla 22. Prueba de Duncan para fósforo orgánico

	Tiempo	N	Subconjunto para alfa = .05		
			2	3	1
Duncan(a)	3	15	475,21493		
	2	15	493,31227		
	1	15		611,39880	
	0	15			748,61133
Sig.			0,378	1,000	1,000

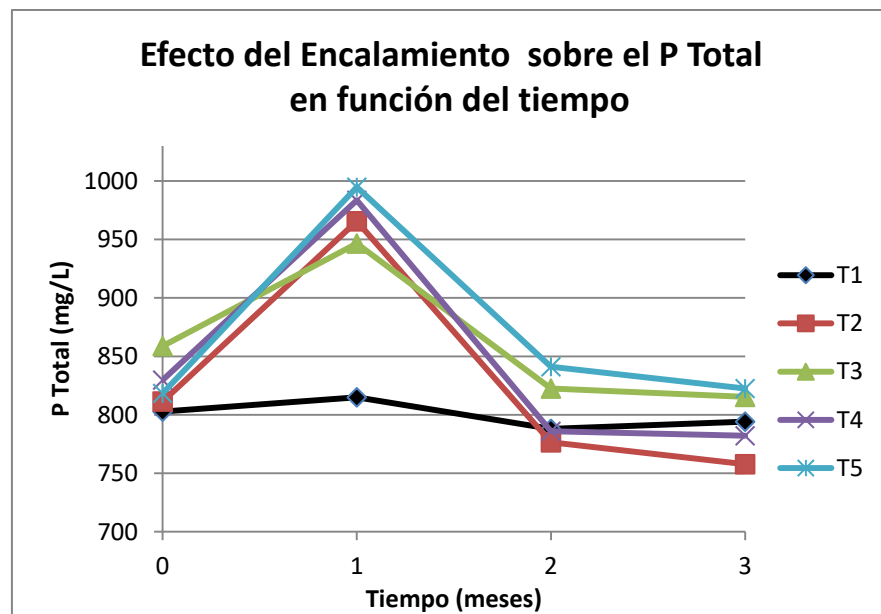
5.5.4. Efecto del encalamiento sobre el valor del P total en función del tiempo

Los resultados se representan en la tabla 23 y figura 20.

Tabla 23. Efecto del encalamiento sobre el P total

Tratamiento	P total Tiempo 0	P total Tiempo 1	P total Tiempo 2	P Total Tiempo 3
T1 = Suelo Testigo	802,766	814,929	788,051	794,235
T2 = Cal Agrícola Dosis 1	811,401	965,590	776,488	757,769
T3 = Cal Agrícola Dosis 2	858,744	946,562	822,467	815,414
T4 = Cal Dolomita Dosis 1	829,810	983,541	785,900	782,152
T5 = Cal Dolomita Dosis 2	818,465	994,580	841,114	822,572

Figura 20. Efecto del encalamiento sobre el valor del P total en función del tiempo



En la figura 20 se observa que no hay diferencias apreciables en los valores del Fósforo total en el tiempo 0 y en el tiempo 3 en todos los tratamientos. Se observan valores superiores en el tiempo 1 para todos los tratamientos con

aplicación de cal. Este incremento se podría atribuir a la alta actividad microbiana en este punto, conduciendo a una alta neosíntesis con la consecuente proliferación de sus microorganismos, aumentando así el P total como se pudo deducir de las curvas de la AFA y P disponible, por las condiciones adecuadas adquiridas por el encalamiento.

La prueba estadística ANOVA de 1 factor (Anexo 2, Tabla 9,) muestra que hay diferencia significativa entre los valores de P total de los diferentes tiempos (sig = 0.000). La prueba de comparaciones múltiples para la variable tiempo (Anexo 2, Tabla 10) indica que los valores del P total en el tiempo cero son significativamente inferiores a los valores en el tiempo 1, corroborando la afirmación anterior y así mismo que los mayores contenidos de P total se observan en el tiempo 1 siendo significativamente superiores. Esto se comprueba aún más con la prueba de Duncan (Tabla 24).

Tabla 24. Prueba de Duncan para fósforo total

	Tiempo	N	Subconjunto para alfa = .05	
			1	2
Duncan(a)	3	15	798,71140	
	2	15	802,80360	
	0	15	824,23733	
	1	15		941,06920
	Sig.		0,173	1,000

5.6. CORRELACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ÁCIDA CON OTROS PARÁMETROS

Como se manifestó anteriormente se puede observar que existe correlación entre la AFA y los otros parámetros especialmente el P disponible y el P total, ya que si el fósforo en el suelo tiene poca disponibilidad debido al bajo valor de pH, los microorganismos deben buscar la forma de obtenerlo para su propia nutrición y neosíntesis.

En la tabla 25 se aprecia que existe una correlación positiva entre la AFA y el valor de pH, sin embargo, esta correlación no es significativa, posiblemente porque como se explico anteriormente, mientras la actividad alcanza su rango óptimo de pH esta actividad va incrementando. Una vez alcanzado este rango, su actividad empieza a disminuir a medida que sobrepasa el límite superior del rango óptimo.

Tabla 25. Correlaciones de Pearson

		Actividad de la Fosfatasa	pH 1	Fosforo Disponible	Fosforo Organico	Fosforo Total
Actividad de la Fosfatasa	Correlación de Pearson	1	0,190	0,573(**)	-0,172	0,558(**)
	Sig. (bilateral)		0,146	0,000	0,189	0,000
	N	60	60	60	60	60
pH 1	Correlación de Pearson	0,190	1	0,554(**)	-0,558(**)	0,272(*)
	Sig. (bilateral)	0,146		0,000	0,000	0,035
	N	60	60	60	60	60
Fosforo Disponible	Correlación de Pearson	0,573(**)	0,554(**)	1	-0,356(**)	0,451(**)
	Sig. (bilateral)	0,000	0,000		0,005	0,000
	N	60	60	60	60	60
Fosforo Organico	Correlación de Pearson	-0,172	-0,558(**)	-0,356(**)	1	0,190
	Sig. (bilateral)	0,189	0,000	0,005		0,146
	N	60	60	60	60	60
Fosforo Total	Correlación de Pearson	0,558(**)	0,272(*)	0,451(**)	0,190	1
	Sig. (bilateral)	0,000	0,035	0,000	0,146	
	N	60	60	60	60	60

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Igualmente se observa una correlación positiva altamente significativa entre dicha actividad y el P disponible, ya que a mayor actividad es de esperarse que aumente la disponibilidad de este nutriente, porque los microorganismos mineralizan P orgánico para obtener el necesario para su metabolismo y además permite incrementar la concentración de este nutriente en la solución del suelo.

Esto se corrobora con la correlación negativa que hay entre la AFA y el P orgánico que aun cuando no es significativa si es negativa. También se corrobora por el hecho de que se observa una correlación positiva altamente significativa entre el P disponible y el valor del pH como era de esperarse, ya que a menor pH menor disponibilidad, y por esto los microorganismos liberan la Fosfatasa ácida para poder aumentar dicha disponibilidad.

Se aprecia también una correlación negativa altamente significativa entre el contenido de P orgánico y el valor del pH indicando que entre más acidez presente el suelo, menor mineralización del P orgánico y por esto su contenido será mayor. Con la ayuda del encalado el valor del pH aumenta, esto conlleva al aumento en la mineralización del P orgánico y producción de P disponible, esto se comprueba con la correlación negativa altamente significativa entre ellos, a medida que disminuye el P orgánico, aumenta el fosforo disponible para las plantas. Se

aprecia que el P total tiene correlación positiva significativa con la AFA, el P disponible y el pH indicando que al aumentar cada uno de estos parámetros es posible que aumente el P total.

Se puede inferir por lo tanto que el encalamiento produce incremento sobre la actividad de la Fosfatasa ácida en Andisoles caucanos, siendo superior el incremento con cal Dolomita con dosis 1 y 2g /100g de suelo y cal Agrícola 0.5 g/100 g de suelo, efecto que obedece al mejoramiento de la reacción química en el suelo (pH). Se encuentra que el rango óptimo de pH para la actividad de la Fosfatasa ácida en el Andisol está comprendida entre 5.7-6.4. Además se deduce que el incremento en la actividad de la Fosfatasa ácida implica incremento en la disponibilidad del fósforo para los cultivos y disminución del fósforo orgánico por mineralización de éste último. También se deduce que el encalamiento produce el máximo efecto después de un mes de su aplicación debido a que la reacción de neutralización va aumentando progresivamente. Por otra parte se infiere que si el encalamiento lleva el pH a valores superiores de 6.3 produce efectos negativos en el indicador bioquímico de la calidad del suelo.

6. CONCLUSIONES

- El suelo analizado es muy fuertemente ácido, presenta serias deficiencias en fósforo, microelementos y bases de cambio. El alto contenido de Aluminio incrementa la acidez intercambiable y afecta la retención de las bases de cambio disminuyendo la fertilidad del suelo. Sin embargo, el alto valor de MO presente en este suelo retiene fuertemente el aluminio, por lo que la acidez original de éste suelo se atribuye principalmente a la presencia de MO que a su vez es la responsable del alto valor de CIC y del alto porcentaje de nitrógeno.
- Se logró implementar el método colorimétrico en el equipo espectrofotómetro UV-vis Genesys 20[®] para la determinación de actividad de la Fosfatasa ácida, en Andisoles Caucanos, siendo lineal en el rango de 0,28 a 12 mg/L, con coeficiente de correlación de 0.998, con % C.V de 2,65%, preciso, exacto con un %R para la metodología global de 98,03%, con LOD y LOQ de 0.0084 y 0.28 mg/L respectivamente. El método es suficientemente sensible para permitir la detección y cuantificación de la actividad de la Fosfatasa ácida en Andisoles Caucanos con niveles altos de MO.
- La muestra de suelo obtenida en el municipio de Cajibío, Departamento de Cauca, presenta propiedades adecuadas (fuerte acidez, baja disponibilidad de fósforo y alto contenido de materia orgánica) para evaluar la metodología implementada, encontrándose actividad de la enzima durante todo el tiempo del ensayo.
- El encalamiento del suelo analizado produce incremento en la actividad de la Fosfatasa ácida independientemente del tipo de cal ni de la dosis, hasta alcanzar valores de pH comprendidos en el rango de 5.7 a 6.4. Por encima y por debajo de este rango empieza a disminuir dicha actividad. Por lo tanto se atribuye al mejoramiento de las condiciones químicas de suelo y se logra comprobar que por efectos antrópicos, el encalamiento produce cambios a corto plazo en la calidad del suelo.
- El incremento de la actividad de la Fosfatasa ácida produce a su vez incremento en la disponibilidad del P debido a la necesidad de los microorganismos de este nutriente para su neosíntesis, aportando de esta manera P a la solución del suelo, factor importante para este tipo de suelos. Igualmente el incremento en dicha actividad produce un descenso en el

nivel de P orgánico confirmando así la mineralización por parte de los microorganismos a través de la Fosfatasa ácida.

- La disminución de los valores en la actividad de la Fosfatasa ácida después del segundo mes del enclavamiento en todos los tratamientos, posiblemente se debe a que los microorganismos ya se suplieron con el Fósforo necesario para su metabolismo y su proliferación empieza a descender porque las condiciones químicas empiezan a ser hostiles.

- El efecto de la cal Agrícola sobre la actividad de la Fosfatasa ácida es superior con la menor dosis y similar al efecto producido por la cal Dolomita en sus dos dosis, ya que produce un mayor incremento en la actividad y por tanto se mejoran las condiciones del suelo. Entre los dos tipos de cal, es recomendable la cal Dolomita puesto que además de incrementar la actividad de la Fosfatasa ácida, aporta Mg al suelo para suplir su fuerte deficiencia.

- Existe una correlación positiva altamente significativa entre la actividad de la Fosfatasa ácida y los contenidos de fósforo disponible y total, de tal manera que al aumentar dicha actividad se incrementan sus contenidos, favoreciendo el desarrollo y potencial genético de las plantas.

BIBLIOGRAFÍA

1. TABATABAI A.M., WEAVER R.W., ANGLE S., BOTTOMLEY P. (1994). Soil enzymas.Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties. Ed. A. Klute, Second Edition. SSSA, Madison. pp 775-814.
2. DICK W.A., CHENG L., WANG P. (2000). Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *Soil Biology & Biochemistry* 32. pp 1915–1919.
3. TRASAR, C.; GIL, F.; LEIRÓS C., (2003). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Ediciones Mundi Prensa, España. pp 370.
4. MARTINEZ V. M.A TABATABAI. (2000). Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol Fertil Soils* 31:85–9.
5. YOSHIOKA, I. (2005). Actividad de fostasas acida y alcalina en un suelo cultivado con plátano Musa AAB: en tres sistemas de manejo. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. pp 99.
6. MARTINEZ L., POTOSÍ S. (2005). Fraccionamiento de fósforo y su correlación con la materia orgánica y otras propiedades de los suelos del departamento del Cauca. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. Trabajo de grado (Químico). Popayán.
7. MOSQUERA C. (2006). Caracterización preeliminar de la estructura de los ácidos húmicos de un suelo Andisol del departamento del Cauca. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. Trabajo de grado (Químico). Popayán.
8. MALAGON. C, Dimas. PULIDO.R, Carlos. (1995). Suelos de Colombia, origen, evolución, clasificación. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. pp. 289-326
9. ESPINOSA, J. (2008). Distribución, uso y manejo de los suelos de la región Andina. Memorias del XI Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Quito, Ecuador.
10. ARSHAD, M.A. y COEN, G.M. (1992). Characterization of soil quality: Physical and chemical criteria. *American J. of Alternative Agriculture* 7: pp. 25-31.

11. BERTSCH, F, (1986). Manual para interpretar la fertilidad de los suelos de Costa Rica, San José, Universidad de Costa Rica.
12. LEÓN, L.A. (2001). Evaluación de la fertilidad del suelo. In Fertilidad de suelos: diagnóstico y control. Segunda edición por F.S.Silva, Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Bogotá, Colombia. p. 155-183.
13. CERÓN R. LAURA., MELGAREJO M. LUZ M. (2005). Soil Enzymes: Health and Quality Indicators. *Acta Biológica Colombiana, Vol. 10 No. 1.*
14. KARLEN, D.L., MAUSBACH, M.J., DORAN, J.W., CLINE, R.G., HARRIS, R.F. y SCHUMAN, G.E. (1997). Soil quality: a concept, definition and framework for evaluation. *Soil Science Society of America J.* 61: pp. 4-10.
15. BAUTISTA C. ANGÉLICA ;ETCHEVERS B. JORGE; CASTILLO S. RAFAEL FELIPE; GUTIÉRREZ C. CARMEN. (2004). La calidad del suelo y sus indicadores. *Ecosistemas. Vol. 13, n.2. ISSN 1697-2473, pp. 90-97.*
16. GRIFFITHS B.S., M. BONKOWSKI, J. ROY, K. RITZ. (2001). Functional Stability Substrate, Utilisation and Biological Indicators of Soil Following Environmental Impacts. *Applied Soil Ecology* 16: pp. 49-61
17. ELLIOTT, E. T. and COLEMAN, D. C. (1988). Let the soil work for us. *Ecological Bulletins* 39: pp. 23-32.
18. PANKHURST, CE; HAWKE, BG; MC DONALD, HJ; KIRKBY, C.A; MICHELSEN, P; O'BRIEN, KA; GUPTA, VVSR; DOUBE, BM. (1995). Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35: pp. 1015- 1028.
19. CARTER, MR; GREGORICH, EG; ANGERS, DA; BEARE, MH; SPARLING, GP; WARDLE, DA; VORONEY, RP. (1999). Interpretation of microbial biomass measurements for soil quality assessment in humid temperate regions. *Canadian Journal of Soil Science* 79: pp. 507-520.
20. NIELSEN, MN; WINDING, A. (2002). Microorganisms as indicators of soil health. National Environmental Research Institute (NERI), Denmark. Technical Report N° 388. pp. 82.
21. PAZ FERREIRO J. (1999), Propiedades bioquímicas de suelos de prado de Galicia. Tesis doctoral. USC. Facultad de farmacia.

- 22.** GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, M. T. (2000). Investigación y perspectivas de la enzimología de suelos en España. C.S.I.C., Murcia.
- 23.** BROOKES, P. C. (1985). Microbial biomass and activity measurements in soil. *Journal of Science Food Agricultural* 36: pp. 269-271.
- 24.** JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. (1981). Microbial biomass in soils: measurement and turnover. *En: E. A. Paul & J. N. Ladd (eds.), Soil Biochemistry Vol. 5.* Marcel Dekker, New York. pp. 415-417.
- 25.** BORIE G, AGUILERA S Y PEIRANO P (1999). Actividad Biológica en suelos. *Frontera Agrícola: 5(1 y 2).* pp. 29-32.
- 26.** DATTARI. La Importancia de la Materia Orgánica en el Suelo. *Revista Terralia.*
- 27.** GALLARDO, L. Juan. (2004) Mineralización y Humificación de la Materia Orgánica del suelo: Consecuencias sobre la contaminación. *Memorias del X Congreso de la Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo.* pp. 142-152.
- 28.** SHIBU.M.E, LEFFELAAR.P.A, and VAN KEULEN.H. 2006. Quantitative description of soil organic matter dynamics- A review of approaches with reference to rice- based cropping systems. *Geoderma*137. pp. 1-18.
- 29.** ROBERT M., (2002). Captura de Carbono en los suelos para un mejor manejo de la Tierra. *Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación.* Roma. pp 37-39.
- 30.** GARAVITO, F., (1974). *Propiedades Químicas de los Suelos.* Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Vol 10. No 11. Bogotá.
- 31.** GIRALDO, E. (2002). *Agroquímica: Un Estudio de los Nutrientes Esenciales en la Producción Agrícola.* Universidad del Cauca. Popayán.
- 32.** FASSBENDER, H., BOMEMISZA, E. (1987). *Química de Suelos con Énfasis en Suelos de América Latina.* Costa Rica. pp. 7, 11 y 121-124.
- 33.** TSAI, S.M., ROSSETTO R. (1992). Transformacoes microbianas do fósforo. *In Microbiologia do Solo.* Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Campinas, Brasil.

- 34.** ŠARAPATKA B. (2003). Phosphatase activities (ACP, ALP) in agroecosystem soils. Department of Ecology and Crop Production Science Uppsala. Sueciae. Doctoral thesis. ISBN 91-576-6403-X. Universitatis Agriculturae Sueciae.
- 35.** STEVENSON, F.J.(1986): *Cycles of soil (carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients)*. John Wiley and Sons, New York. pp 231 – 28.
- 36.** HARRISON, A.F. (1987): *Soils organic phosphorus*. C.A.B. International United Kingdom. pp 257.
- 37.** BURNS, R.G., (1978). *Soil Enzymes*. Academic Press. New York. pp 380.
- 38.** TORRES M, LIZARAZO L. (2007). Dinámica de grupos funcionales y actividad de la Fosfatasa de dos suelos Agrícolas del Departamento de Boyacá. pp 56-58.
- 39.** SPEIR T, ROSS D., (1978). *Soil Phosphatase and Sulphatase*. pp176-250.
- 40.** DICK, WA & MA TABATABAI. (1993). Significance and potential uses of soil enzymes. *Soil Microbial Ecology*. Metting FB (ed). Marrel Dekker, New York. pp. 95-127.
- 41.** RAO.S. (1983). El valor nutritivo de la vinaza y su efecto en el pH del suelo. In seminario Interamericano de la caña de azúcar. Fertilidad y manejo de suelos. Miami. pp. 540 – 549.
- 42.** GONZÁLEZ, O.; SÁNCHEZ DE P., M.; MIRANDA, J.; MUÑOZ, J.(2002). Actividad de esterases en rizosfera de maracuyá (*Pasiflora edulis var, floricarpa*) en diferentes estados de desarrollo y condiciones sanitarias. Memorias del XXIII Congreso ASCOLFI. Nuevas tendencias en Fitopatología. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. pp 38.
- 43.** ARNOLD FINCH. Fertilizantes y fertilización. Editorial Reverte.
- 44.** BARROTI, G. Y NAHAS, E. (2003). El fósforo y el encalado sobre las Fosfatasa y la producción de *Braquiaria raziziensis* y *Cajanos Cajan* Agronomía Trop. Vol. 53 No2 Maracay. pp 15.
- 45.** BRAVO, I. y GIRALDO, E. (2003). Manual de prácticas de química agrícola: Análisis de suelos. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. Departamento de Química. Popayán.

- 46.**EIVAZI F, TABATABAI A., (1977). Phosphatases in Soils. Soil.Biol., Biochem.. pp 167-172.
- 47.**TABATABAI M., BREMNER J. (1969). Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biol. Biochem. pp. 301-307.
- 48.**ISABEL BRAVO R, LUISA MARQUÍNEZ, SANDRA POTOSI (2007). Fraccionamiento del Fósforo y correlación con la materia orgánica en dos suelos del departamento del Cauca. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas y de la Educación. Trabajo de grado (Químico). Popayán.
- 49.**SILVA, F. (2000). Fundamentos para la interpretación de análisis de suelos, plantas y aguas para riego. Sociedad Colombiana de la Ciencia Del Suelo. Tercera edición. Santa Fé de Bogotá.
- 50.**SÁNCHEZ, DIANA (2002). Validación de Métodos para la Determinación en Aguas Superficiales de Metales Alcalinos (Sodio y Potasio) por Absorción Atómica a la Llama y Alcalinotérreos (Calcio y Magnesio) por Volumetría con EDTA. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Facultad de Ciencias y Educación, Proyecto de Licenciatura en Química. Bogotá.
- 51.**CISNEROS O. WILLIAM A. (2006). Validación de Métodos Analíticos para la Determinación de: “Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), Sulfatos y Nitratos en Aguas Superficiales en el Laboratorio Ambiental de la CRC” Trabajo de Grado Mención Meritoria para optar al título de Químico Universidad del Cauca.
- 52.**TRASAR-CEPEDA and T. CARBALLAS (1991). Liming and the phosphatase activity and mineralization of phosphorus in an andic soil. U.E.I. de Bioquímica de Suelos. CSIC, Santiago de Compostela, Spain.

ANEXOS

Anexo 1. Parámetros de comparación para niveles de fertilidad en suelos de clima medio (SCCS. 2000)

Tabla 1. Nivel de densidad real

Nivel	Bajo	Normal	Alto	Muy alto
Densidad (g/cm ³)	2.1 – 2.3	2.3 – 2.5	2.6 – 2.8	> 2.8

Tabla 2. Nivel de MO en suelo de clima medio

Nivel	Bajo	Medio	Alto
% MO	< 3	3 - 5	> 5

Tabla 3. Clasificación de acidez de suelos de acuerdo al valor de pH

pH	Clasificación
4.0 - 4.5	Acidez extrema
4.5 - 5.0	Acidez muy fuerte
5.0 - 5.5	Acidez fuerte
5.5 - 6.0	Acidez media
6.0 - 6.5	Acidez suave
6.5 - 7.0	Acidez muy suave
7.0 - 8.0	Alcalinidad suave
8.0 - 8.5	Alcalinidad moderada
8.5 - 9.0	Alcalinidad moderada
9.0 - 9.5	Alcalinidad fuerte
9.5 - 10.0	Alcalinidad muy fuerte

Tabla 4. Toxicidad de aluminio en el suelo (S.C.C.S. 2000)

Al Int. meq/100g. suelo		Evaluación	Efectos tóxicos
< 1.5 meq		Bajo	No tóxico
1.6 a 3.0 meq		Medio	Mod. Tóxico
> 3.0 meq		Alto	Tóxico, especialmente en leguminosas
% Saturación de aluminio	>60 Reducción severa del crecimiento de plantas	30-60 Reduce moderadamente el crecimiento y desarrollo	<30 Generalmente no tóxica

Tabla 5. Clasificación del Suelo de acuerdo a niveles de Ca, Mg y K

Nutriente	(meq/100 g suelo)		
	Bajo	Medio	Alto
Ca	< 3.00	3.00 - 6.00	> 6.00
Mg	< 1.50	1.50 - 2.50	> 2.50
K	< 0.15	0.15 - 0.30	> 0.30

Tabla 6. Disponibilidad del fósforo para el método de Bray II

Nivel crítico	Disponibilidad
< 15 ppm	Bajo
15 – 30 ppm	Medio
> 30 ppm	Alto

Anexo 2. Tratamiento estadístico

Tabla 7. Prueba de Normalidad (Tiempos)

	Tiempo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Actividad de la Fosfatasa	0	0,854	15	0,020
	1	0,848	15	0,016
	2	0,905	15	0,115
	3	0,913	15	0,149
pH 1	0	0,880	15	0,047
	1	0,788	15	0,003
	2	0,826	15	0,008
	3	0,801	15	0,004
Fosforo Disponible	0	0,902	15	0,103
	1	0,704	15	0,000
	2	0,862	15	0,026
	3	0,970	15	0,865
Fosforo Organico	0	0,925	15	0,230
	1	0,891	15	0,070
	2	0,893	15	0,074
	3	0,860	15	0,024
Fosforo Total	0	0,880	15	0,047
	1	0,733	15	0,001
	2	0,907	15	0,123
	3	0,929	15	0,267

* Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Tabla 8. Prueba de normalidad (Tratamientos)

	Tratamiento	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Actividad de la Fosfatasa	1	0,960	12	0,790
	2	0,931	12	0,386
	3	0,799	12	0,009
	4	0,867	12	0,059
	5	0,945	12	0,559
Fósforo Disponible	1	0,864	12	0,054
	2	0,875	12	0,075
	3	0,780	12	0,006
	4	0,869	12	0,063
	5	0,925	12	0,334
Fósforo Orgánico	1	0,757	12	0,003
	2	0,854	12	0,041
	3	0,818	12	0,015
	4	0,798	12	0,009
	5	0,926	12	0,337
Fósforo Total	1	0,923	12	0,308
	2	0,784	12	0,006
	3	0,950	12	0,640
	4	0,837	12	0,025
	5	0,844	12	0,031
pH 1	1	0,754	12	0,003
	2	0,787	12	0,007
	3	0,813	12	0,013
	4	0,699	12	0,001
	5	0,761	12	0,003

Tabla 9. Prueba de ANOVA de un factor (Tiempo)

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Actividad de la Fosfatasa	Inter-grupos	95,826	3	31,942	8,338	0,000
	Intra-grupos	214,537	56	3,831		
	Total	310,363	59			
pH 1	Inter-grupos		3	2,541	5,997	0,001
	Intra-grupos	23,727	56	0,424		
	Total	31,350	59			

Continuación Tabla 9. Prueba de ANOVA de un factor (Tiempo)

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Fosforo Disponible	Inter-grupos	46,956	3	15,652	21,229	0,000
	Intra-grupos	41,289	56	0,737		
	Total	88,245	59			
Fosforo Orgánico	Inter-grupos	740440,452	3	246813,484	79,229	0,000
	Intra-grupos	174451,790	56	3115,211		
	Total	914892,243	59			
Fosforo Total	Inter-grupos	718381,772	3	239460,591	85,263	,000
	Intra-grupos	157275,070	56	2808,483		
	Total	875656,843	59			

Tabla 10. Prueba de Comparaciones múltiples (Tiempo)

Variable dependiente		(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
AFA	Tukey	0	1	-2,580600(*)	0,714705	0,004	-4,47306	-0,68814
			2	0,060133	0,714705	1,000	-1,83232	1,95259
			3	0,727373	0,714705	0,740	-1,16508	2,61983
		1	0	2,580600(*)	0,714705	0,004	0,68814	4,47306
			2	2,640733(*)	0,714705	0,003	0,74828	4,53319
			3	3,307973(*)	0,714705	0,000	1,41552	5,20043
		2	0	-0,060133	0,714705	1,000	-1,95259	1,83232
			1	-2,640733(*)	0,714705	0,003	-4,53319	-0,74828
			3	0,667240	0,714705	0,787	-1,22522	2,55970
		3	0	-0,727373	0,714705	0,740	-2,61983	1,16508
			1	-3,307973(*)	0,714705	0,000	-5,20043	-1,41552
			2	-0,667240	0,714705	0,787	-2,55970	1,22522
pH 1	Tukey	0	1	-,067867(*)	0,23768	0,030	-1,3080	-0,0493
			2	-0,86153(*)	0,23768	0,003	-1,4909	-0,2322
			3	-0,87133(*)	0,23768	0,003	-1,5007	-0,2420
		1	0	0,67867(*)	0,23768	0,030	0,0493	1,3080
			2	-0,18287	0,23768	0,868	-0,8122	0,4465
			3	-0,19267	0,23768	0,849	-0,8220	0,4367
		2	0	0,86153(*)	0,23768	0,003	0,2322	1,4909
			1	0,18287	0,23768	0,868	-0,4465	0,8122
			3	-0,00980	0,23768	1,000	-0,6392	0,6196
		3	0	0,87133(*)	0,23768	0,003	0,2420	1,5007
			1	0,19267	0,23768	0,849	-0,4367	0,8220
			2	0,00980	0,23768	1,000	-0,6196	0,6392

Continuación Tabla 10. Prueba de Comparaciones múltiples (Tiempo)

Variable dependiente		(I) Tiempo	(J) Tiempo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
Fósforo Disponible	Tukey	0	1	-2,212267(*)	0,313539	0,000	-3,04248	-1,38205
			2	-1,778200(*)	0,313539	0,000	-2,60841	-0,94799
			3	-,616267	0,313539	0,213	-1,44648	0,21395
		1	0	2,212267(*)	0,313539	0,000	1,38205	3,04248
			2	,434067	0,313539	0,514	-0,39615	1,26428
			3	1,596000(*)	0,313539	0,000	0,76579	2,42621
	2	0	1,778200(*)	0,313539	0,000	0,94799	2,60841	
		1	-,434067	0,313539	0,514	-1,26428	0,39615	
		3	1,161933(*)	0,313539	0,003	0,33172	1,99215	
		3	0	,616267	0,313539	0,213	-0,21395	1,44648
			1	-1,596000(*)	0,313539	0,000	-2,42621	-0,76579
			2	-1,161933(*)	0,313539	0,003	-1,99215	-0,33172
Fósforo Orgánico	Tukey	0	1	137,212533(*)	19,351084	0,000	85,97304	188,45202
			2	255,299067(*)	19,351084	0,000	204,05958	306,53856
			3	273,396400(*)	19,351084	0,000	222,15691	324,63589
		1	0	-137,212533(*)	19,351084	0,000	-188,45202	-85,97304
			2	118,086533(*)	19,351084	0,000	66,84704	169,32602
			3	136,183867(*)	19,351084	0,000	84,94438	187,42336
	2	0	-255,299067(*)	19,351084	0,000	-306,53856	-204,05958	
		1	-118,086533(*)	19,351084	0,000	-169,32602	-66,84704	
		3	18,097333	19,351084	0,786	-33,14216	69,33682	
		3	0	-273,396400(*)	19,351084	0,000	-324,63589	-222,15691
			1	-136,183867(*)	19,351084	0,000	-187,42336	-84,94438
			2	-18,097333	19,351084	0,786	-69,33682	33,14216
Fosforo Total	Tukey	0	1	-116,831867(*)	17,421670	0,000	-162,96249	-70,70125
			2	21,433733	17,421670	0,610	-24,69689	67,56435
			3	25,525933	17,421670	0,465	-20,60469	71,65655
		1	0	116,831867(*)	17,421670	0,000	70,70125	162,96249
			2	138,265600(*)	17,421670	0,000	92,13498	184,39622
			3	142,357800(*)	17,421670	0,000	96,22718	188,48842
	2	0	-21,433733	17,421670	0,610	-67,56435	24,69689	
		1	-138,265600(*)	17,421670	0,000	-184,39622	-92,13498	
		3	4,092200	17,421670	0,995	-42,03842	50,22282	
		3	0	-25,525933	17,421670	0,465	-71,65655	20,60469
			1	-142,357800(*)	17,421670	0,000	-188,48842	-96,22718
			2	-4,092200	17,421670	0,995	-50,22282	42,03842

Tabla 11. Prueba ANOVA de un factor (Tratamientos)

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Actividad de la Fosfatasa	Inter-grupos	124,185	4	31,046	9,172	0,000
	Intra-grupos	186,178	55	3,385		
	Total	310,363	59			
pH 1	Inter-grupos	20,514	4	5,129	26,031	0,000
	Intra-grupos	10,836	55	0,197		
	Total	31,350	59			
Fósforo Disponible	Inter-grupos	31,415	4	7,854	7,601	0,000
	Intra-grupos	56,830	55	1,033		
	Total	88,245	59			
Fósforo Orgánico	Inter-grupos	39407,912	4	9851,978	,619	0,651
	Intra-grupos	875484,331	55	15917,897		
	Total	914892,243	59			
Fósforo Total	Inter-grupos	37654,890	4	9413,722	1,768	0,149
	Intra-grupos	292923,218	55	5325,877		
	Total	330578,108	59			

Tabla 12. Prueba de Comparaciones múltiples (tratamientos)

Variable dependiente		(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
AFA	Tukey	1	2	-3,731417(*)	0,751116	0,000	-5,84981	-1,61302
			3	-0,812650	0,751116	0,815	-2,93104	1,30574
			4	-3,241983(*)	0,751116	0,001	-5,36038	-1,12359
			5	-2,662483(*)	0,751116	0,007	-4,78088	-0,54409
		2	1	3,731417(*)	0,751116	0,000	1,61302	5,84981
			3	2,918767(*)	0,751116	0,002	0,80037	5,03716
			4	0,489433	0,751116	0,966	-1,62896	2,60783
			5	1,068933	0,751116	0,616	-1,04946	3,18733
		3	1	0,812650	0,751116	0,815	-1,30574	2,93104
			2	-2,918767(*)	0,751116	0,002	-5,03716	-0,80037
			4	-2,429333(*)	0,751116	0,017	-4,54773	-0,31094
			5	-1,849833	0,751116	0,114	-3,96823	0,26856

Continuación Tabla 12. Prueba de Comparaciones múltiples (tratamientos)

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
			Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	
AFA	4	1	3,241983(*)	0,751116	0,001	1,12359	5,36038	
		2	-0,489433	0,751116	0,966	-2,60783	1,62896	
		3	2,429333(*)	0,751116	0,017	0,31094	4,54773	
		5	0,579500	0,751116	0,938	-1,53889	2,69789	
		5	2,662483(*)	0,751116	0,007	0,54409	4,78088	
	pH 1	1	2	-1,068933	0,751116	0,616	-3,18733	1,04946
			3	1,849833	0,751116	0,114	-0,26856	3,96823
			4	-0,579500	0,751116	0,938	-2,69789	1,53889
			2	-0,89975(*)	0,18121	0,000	-1,4108	-0,3887
			3	-1,46392(*)	0,18121	0,000	-1,9750	-0,9529
2		4	-1,33642(*)	0,18121	0,000	-1,8475	-0,8254	
		5	-1,62642(*)	0,18121	0,000	-2,1375	-1,1154	
		1	0,89975(*)	0,18121	0,000	0,3887	1,4108	
		3	-0,56417(*)	0,18121	0,024	-1,0752	-0,0531	
		4	-0,43667	0,18121	0,128	-0,9477	0,0744	
3	5	-0,72667(*)	0,18121	0,002	-1,2377	-0,2156		
	1	1,46392(*)	0,18121	0,000	0,9529	1,9750		
	2	0,56417(*)	0,18121	0,024	0,0531	1,0752		
	4	0,12750	0,18121	0,955	-0,3836	0,6386		
	5	-0,16250	0,18121	0,897	-0,6736	0,3486		
4	1	1,33642(*)	0,18121	0,000	0,8254	1,8475		
	2	0,43667	0,18121	0,128	-0,0744	0,9477		
	3	-0,12750	0,18121	0,955	-0,6386	0,3836		
	5	-0,29000	0,18121	0,504	-0,8011	0,2211		
	5	1,62642(*)	0,18121	0,000	1,1154	2,1375		
5	2	0,72667(*)	0,18121	0,002	0,2156	1,2377		
	3	0,16250	0,18121	0,897	-0,3486	0,6736		
	4	0,29000	0,18121	0,504	-0,2211	0,8011		

Continuación Tabla 12. Prueba de Comparaciones múltiples (tratamientos)

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
						Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
Fosforo Disponible	Tukey	1	2	-2,106000(*)	0,414984	0,000	-3,27639	-0,93561
			3	-1,616333(*)	0,414984	0,002	-2,78672	-0,44594
			4	-1,605833(*)	0,414984	0,003	-2,77622	-0,43544
		2	5	-0,998917	0,414984	0,129	-2,16931	0,17147
			1	2,106000(*)	0,414984	0,000	0,93561	3,27639
			3	0,489667	0,414984	0,763	-0,68072	1,66006
		3	4	0,500167	0,414984	0,748	-0,67022	1,67056
			5	1,107083	0,414984	0,072	-0,06331	2,27747
			1	1,616333(*)	0,414984	0,002	0,44594	2,78672
		4	2	-0,489667	0,414984	0,763	-1,66006	0,68072
			3	0,010500	0,414984	1,000	-1,15989	1,18089
			5	0,617417	0,414984	0,575	-0,55297	1,78781
		5	1	1,605833(*)	0,414984	0,003	0,43544	2,77622
			2	-0,500167	0,414984	0,748	-1,67056	0,67022
			3	-0,010500	0,414984	1,000	-1,18089	1,15989
		5	4	0,606917	0,414984	0,591	-0,56347	1,77731
			1	0,998917	0,414984	0,129	-0,17147	2,16931
			2	-1,107083	0,414984	0,072	-2,27747	0,06331
			3	-0,617417	0,414984	0,575	-1,78781	0,55297
				4	-0,606917	0,414984	0,591	-1,77731

Tabla 13. Prueba de Duncan para AFA en el suelo testigo

tiempo	N	Subconjunto para alfa = .05		
		2	3	1
,00	3	8,4430		
1,00	3		9,6430	
3,00	3		9,8924	9,8924
2,00	3			10,4317
Sig.		1,000	,423	,105