

**EFFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA
ALCALINA Y DISPONIBILIDAD DE FOSFORO EN UN ANDISOL CAUCANO**

VIVIANA DEL SOCORRO NAVIA MERA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2011**

**EFFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA
ALCALINA Y DISPONIBILIDAD DE FOSFORO EN UN ANDISOL CAUCANO**

VIVIANA DEL SOCORRO NAVIA MERA

**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
2011**

Nota de Aceptación

Director

M.Sc ISABEL BRAVO REALPE

Jurado

Jurado

Fecha de sustentación: Popayán, Febrero 28 de 2011

AGRADECIMIENTOS

Al concluir esta etapa de mi vida, quiero expresar un profundo agradecimiento a quienes con su cariño, ayuda, apoyo y comprensión contribuyeron a esta realidad.

A Dios por hacer posible este día, por iluminar mi camino, por ser mi fuerza para continuar y permitirme conocer personas tan especial que de una u otra forma influyeron para alcanzar una meta más en mi vida.

A mi madre María del Socorro, el ser de mi inspiración, porque no tendré una forma de agradecer todo el amor, la comprensión, la paciencia, el apoyo incondicional, los consejos, el sacrificio y los esfuerzos constantes para conmigo, por eso este logro también es suyo.

A mi padre Camilo por su cariño y apoyo.

A mi abuela Carmen Rosa por su amor y sabios consejos.

A mis hermanos Leidy Lorena, Leidy Esmeralda, Marly Viviana y Camilo Andrés por todo su amor, su amistad, su constante apoyo, sus consejos, sus risas y palabras de aliento en los momentos más difíciles, pues hicieron mi vida más agradable.

A Camilo Andrés Arboleda por su apoyo incondicional y la felicidad que me brindó en su momento.

A mi tío Marco y Sra., por su gran ayuda en un momento decisivo de mi carrera.

A mi Directora, Isabel Bravo, por su gran y constante apoyo, por su tiempo, su paciencia, amistad, pero sobre todo por su interés en formar una profesional comprometida.

A cada uno de los docentes que contribuyeron en mi formación tanto académica como personal desde mi infancia.

A todos mis amigos por ayudarme a crecer y madurar como persona y estar presente alegrándome la vida con su apoyo, consejos y buen humor: Jhon James, Adrian, Andrés, Andersson, Cristian, Edison, Guillermo, Lizbeth, Luis Alberto, Luis Carlos, Luis Gabriel, Oscar.

En general, a todos y cada uno mil gracias

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	16
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
2. OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GENERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	18
3 FUNDAMENTO TEÓRICO	19
3.1 ANDISOLES	19
3.2 FERTILIDAD DEL SUELO	19
3.3 CALIDAD DEL SUELO	20
3.4 INDICADORES DE LA CALIDAD DEL SUELO	21
3.4.1 MATERIA ORGÁNICA	22
3.4.1.1 Efectos de la Materia Orgánica sobre las Características Físicas, Químicas y Biológicas del Suelo.	23
➤ Características Físicas	23
➤ Características Químicas	23
➤ Características Biológicas	24
3.4.2 MICROORGANISMOS	25
3.4.2.1 Importancia de los Microorganismos	25
3.5 FÓSFORO	27
3.5.1 FÓSFORO INORGÁNICO	28
➤ Ácido fosfórico insoluble de roca madre o retrogrado	28
➤ Ácido fosfórico precipitado o formando compuestos pocos solubles	29
➤ Ácido fosfórico fijado en arcillas y en óxidos de hierro y aluminio	29

Continuación TABLA DE CONTENIDO		Pág.
	➤ Ácido fosfórico en la solución del suelo	29
	➤ Ácido fosfórico orgánico	30
3.5.2	FÓSFORO ORGÁNICO	30
	➤ Fosfatos de inositol	30
	➤ Ácidos nucleicos	31
	➤ Fosfolípidos	32
	➤ Fosfoproteínas	32
	➤ Fosfatos metabólicos	32
3.5.2.1	Mineralización de Fósforo Orgánico	33
3.6	ENZIMAS	35
3.6.1	ENZIMAS DEL SUELO	36
3.6.2	MEDIDAS DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS	37
3.7	FOSFATASAS	38
3.7.1	FOSFATASA ALCALINA	39
3.7.2	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA DEL SUELO	41
3.8	ENCALADO	42
3.8.1	EFFECTOS DEL ENCALADO SOBRE LA DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO	43
4.	METODOLOGÍA	45
4.1	UBICACIÓN GEOGRÁFICA	45
4.2	TOMA DE MUESTRAS	45
4.3	CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL SUELO	46
4.3.1	ANÁLISIS FÍSICOS	46
	➤ Humedad	46
	➤ Textura	46
	➤ Densidad por el método del cilindro	46
4.3.2	ANÁLISIS QUÍMICOS	46
	➤ pH	46
	➤ Materia orgánica	47
	➤ Acidez intercambiable	47
	➤ Determinación de la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)	47
	➤ Determinación de las bases intercambiables	48

Continuación TABLA DE CONTENIDO		Pág.
	➤ Determinación de nitrógeno por el método de Kjeldahl	48
	➤ Determinación de fósforo disponible	49
	➤ Determinación de Microelementos	49
4.3.3	EVALUACION DEL REQUERIMIENTO DE CAL	50
4.4	IMPLEMENTACION DEL METODO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA EN UN ANDISOL CAUCANO	50
4.5	EVALUACION DEL FÓSFORO DISPONIBLE , ORGÁNICO Y FÓSFORO TOTAL	51
4.5.1	EVALUACIÓN DEL P ORGÁNICO	52
4.5.2	EVALUACIÓN DEL P DISPONIBLE	52
4.5.3	EVALUACIÓN DEL P TOTAL	53
4.6	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA	53
5.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	55
5.1	ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL SUELO	55
5.2	REQUERIMIENTO DE CAL	59
5.3	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE ALGUNOS PARÁMETROS QUÍMICOS DEL SUELO	60
5.3.1	EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DE LA HUMEDAD EN FUNCIÓN DEL TIEMPO	60
5.3.2	EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DEL pH EN FUNCIÓN DEL TIEMPO	62
5.3.3	EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DEL P DISPONIBLE EN FUNCIÓN DEL TIEMPO	66
5.3.4	EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DEL P ORGÁNICO EN FUNCIÓN DEL TIEMP	70

Continuación TABLA DE CONTENIDO		Pág.
5.3.5	EFEECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DEL P TOTAL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO	73
5.4	ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO COLORIMÉTRICO UTILIZADO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA	76
5.4.1	VALIDACION DEL SISTEMA INSTRUMENTAL	76
	➤ Selección de longitud de onda de máxima absorbancia	76
	➤ Preparación de la Curva de Calibración	76
5.4.2	LINEALIDAD INSTRUMENTAL	77
5.4.2.1	Precisión	81
	➤ Repetibilidad	81
	➤ Precisión Intermedia	81
	➤ Exactitud	82
5.4.2.2	Límites Críticos	82
5.5	EVALUACION DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA COMO INDICADOR DE LA CALIDAD Y OTROS PARÁMETROS DE UN ANDISOL	83
6.	CONCLUSIONES	90
	BIBLIOGRAFIA	92
	ANEXOS	100

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1	Limites para determinar la mineralización e inmovilización del P.	34
Tabla 2	Análisis Físicos y Químicos	55
Tabla 3	Dosis del requerimiento de cal	59
Tabla 4	Comportamiento de la humedad en función del tiempo	60
Tabla 5	Prueba de Duncan para humedad en tiempo 2	61
Tabla 6	Prueba de Duncan para humedad en tiempo 3	61
Tabla 7	Efecto del encalamiento sobre el pH en función del tiempo	62
Tabla 8	Prueba de Kruskal Wallis para pH en tiempo 1	64
Tabla 9	Prueba de Tukey para el pH en tiempo 1	64
Tabla 10	Prueba de Kruskal Wallis para pH en tiempo 2	65
Tabla 11	Prueba de Tukey para pH en tiempo 2	65
Tabla 12	Prueba de Duncan para pH en tiempo 3	66
Tabla 13	Efecto del encalamiento sobre el fósforo disponible	66
Tabla 14	Prueba de Duncan para fósforo disponible en tiempo 1	69
Tabla 15	Prueba de Duncan para P disponible en tiempo 2	69
Tabla 16	Prueba de Duncan para P disponible en tiempo 3	70
Tabla 17	Efecto del encalamiento sobre del fósforo orgánico	70
Tabla 18	Prueba de Duncan para fósforo orgánico en tiempo 1	72

	Continuación LISTA DE TABLAS	Pág.
Tabla 19	Prueba de Duncan para fósforo orgánico en tiempo 2	72
Tabla 20	Prueba de Duncan para fósforo orgánico en tiempo 3	73
Tabla 21	Efecto del encalamiento sobre el P total	73
Tabla 22	Prueba de Duncan para fósforo total en tiempo 1	74
Tabla 23	Prueba de Duncan para fósforo total en tiempo 2	75
Tabla 24	Prueba de Duncan para fósforo total en tiempo 3	75
Tabla 25	Preparación de la curva de calibración de p-nitrofenol	77
Tabla 26	Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental	77
Tabla 27	Prueba de normalidad para los resultados de linealidad instrumental	78
Tabla 28	Evaluación estadística para la regresión lineal en la curva de calibración	79
Tabla 29	Valores linealidad instrumental	79
Tabla 30	Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Pearson	80
Tabla 31	Resultados de la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto.	80
Tabla 32	Repetibilidad del método colorimétrico	81
Tabla 33	Precisión Intermedia del método colorimétrico	81
Tabla 34	Exactitud del método colorimétrico empleado para la determinación de la Fosfatasa alcalina	82
Tabla 35	Limites críticos del método colorimétrico empleado para determinación de la Fosfatasa alcalina	83

Continuación LISTA DE TABLAS		Pág.
Tabla 36	Efecto del enclamiento sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina	83
Tabla 37	Prueba de Duncan para AFAIk en tiempo 1	85
Tabla 38	Prueba de Duncan para la AFAIk en tiempo 2	85
Tabla 39	Prueba de Duncan para la AFAIk en tiempo 3	86
Tabla 40	Correlaciones variables en tiempo 1	87

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Reacción de precipitación de P en suelos ácidos.	28
Figura 2	Estructura del hexafosfato de inositol	31
Figura 3	Representación de los ácidos nucleicos	31
Figura 4	Fórmula general de los fosfolípidos	32
Figura 5	Estructura de la Lecitina	33
Figura 6	Procesos de la solubilidad de fosfatos	34
Figura 7	Reacción catalizada por la Fosfatasa alcalina y ácida	39
Figura 8	Estructura de la Fosfatasa alcalina	40
Figura 9	Reacciones de un suelo encalado	43
Figura 10	Ubicación geográfica del sitio de muestreo	45
Figura 11	Reacción enzimática para la determinación de la actividad de la fosfatasa	50
Figura 12	Diagrama del proceso de extracción para la determinación de la Fosfatasa alcalina	51
Figura 13	Proceso para la determinación de fósforo orgánico	52
Figura 14	Proceso para la determinación de fósforo disponible	52
Figura 15	Diagrama del proceso para la determinación de fósforo total	53
Figura 16	Diagrama de diseño experimental para la evaluación del efecto de diferentes dosis de cal sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina	54
Figura 17	Reacción del aluminio con los grupos carboxílicos y fenólicos del humus	58

Continuación **LISTA DE FIGURAS****Pág.**

Figura 18	Curva de requerimiento cal del suelo	59
Figura 19	Comportamiento de la humedad en función del tiempo	60
Figura 20	Efecto del encalamiento sobre el pH en función del tiempo	62
Figura 21	Efecto del Encalamiento sobre el valor del P disponible en función del tiempo.	67
Figura 22	Procesos de absorción y desorción de fosfato	67
Figura 23	Solubilización de fosfatos	68
Figura 24	Efecto del encalamiento sobre el valor del P orgánico en función del tiempo	71
Figura 25	Efecto del encalamiento sobre el valor del P total en función del tiempo	74
Figura 26	Espectro de absorción de la solución patrón de p-nitrofenol (5 mg/L)	76
Figura 27	Curva de Calibración de p-nitrofenol	78
Figura 28	Efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina en función del tiempo.	84

LISTA DE ANEXOS

		Pág.
Anexo 1	Parámetros de comparación para niveles de fertilidad en suelos de clima medio (SCCS 2000)	100
Anexo 2	Análisis estadístico	102

LISTA DE ACRÓNIMOS

AFAIk	Actividad de la Fosfatasa Alcalina
Al	Aluminio
C	Carbono
CIC	Capacidad de Intercambio Catiónico
C/N	Relación Carbono-Nitrógeno
C/P	Relación Carbono-Fósforo
Ca	Calcio
Ca/Mg	Relación Calcio –Magnesio
Co	Cobalto
Cu	Cobre
Fe	Hierro
K	Potasio
msnm	Metros sobre nivel del mar
MO	Materia Orgánica
MOS	Materia Orgánica del Suelo
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
N	Nitrógeno
Na	Sodio
P	Fósforo
p-NF	para-nitrofenil
p-NFP	para-nitrofenil fosfato
ppm	partes por millón
S	Azufre
Sig.	significancia
T1	Tratamiento testigo
T2	Tratamiento con Cal Agrícola, dosis 1
T3	Tratamiento con Cal Agrícola, dosis 2
T4	Tratamiento con Cal Dolomita, dosis 1
T5	Tratamiento con Cal Dolomita, dosis 2
Zn	Zinc

RESUMEN

Este análisis se llevó a cabo en el laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca, durante los meses de abril y julio de 2010. Las muestras para este estudio fueron recolectadas en la finca Santa Rosa, Vereda La Aurelia, municipio de Cajibío en el Departamento del Cauca, zona dedicada al cultivo de café.

Se seleccionó como indicador bioquímico la actividad de la Fosfatasa alcalina con el propósito de determinar su variación y por tanto el efecto que genera sobre la disponibilidad del fósforo, durante el encalado de suelos fuertemente ácidos. El interés sobre el P, radica en su importancia en la nutrición de las plantas y en su fuerte deficiencia en este tipo de suelos. Además, se evaluó el efecto del encalamiento sobre otras variables como el pH, la humedad, P disponible, P orgánico y P total, dado que esta práctica agrícola afecta las propiedades del suelo e influye en la actividad de las enzimas como las fosfatasas.

La actividad de la Fosfatasa alcalina se determinó de acuerdo al método colorimétrico implementado en el laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca de acuerdo al método descrito por Tabatabai (1994)^[1], el cual emplea como sustrato p-nitrofenilfosfato 0.05M a pH 11.

Se utilizó un diseño experimental factorial de bloques, cuya variable independiente fue la cal, provenientes de dos fuentes; Cal Dolomita y Cal Agrícola, con dos niveles de dosis, con tres períodos de incubación y tres réplicas por tratamiento, incluyendo un testigo absoluto, para un total de 45 tratamientos, siendo las variables dependientes la actividad de la Fosfatasa alcalina, pH, humedad, P disponible, P orgánico y P total. El análisis mostró que efectivamente los tipos de cales aplicados incrementan la AFAIk e influyen en la reacción del suelo mejorando las propiedades y condiciones de este al disminuir la acidez del medio,

El método colorimétrico implementado fue lo suficientemente sensible para permitir la cuantificación de la AFAIk. Los mejores resultados fueron obtenidos con la adición de Cal Agrícola, encontrándose un valor de 1.744 $\mu\text{moles/g.h}$ para la menor dosis y 2.215 $\mu\text{moles/g.h}$ para la mayor, mientras que para los tratamientos con Cal Dolomita fueron 1.632 y 1.615 $\mu\text{moles/g.h}$ para la menor y mayor dosis respectivamente, siendo evidente el mejor efecto proporcionado por la Cal Agrícola, aún al tener menor poder de neutralización.

Los resultados permitieron observar diferencias significativas entre los tratamientos, manifestando además, un incremento paulatino del pH y el P disponible así como una reducción en el P orgánico y el P total a través del tiempo, atribuible a procesos bioquímicos de mineralización.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El fósforo se caracteriza por ser el elemento más estable dentro del suelo, no se pierde por lavado ni por volatilización, sin embargo, esta alta estabilidad implica baja solubilidad y por tanto baja disponibilidad ^[2]. Suelos como los Andisoles, tienen alta capacidad para retener P al formar complejos insolubles con este nutriente, causando su indisponibilidad para las plantas. Esta deficiencia de P es notablemente percibida en Andisoles Caucanos.

El P en el suelo se encuentra en dos formas: orgánico e inorgánico, siendo el fósforo orgánico la forma principal. La mineralización de este P es un proceso bioquímico, catalizado por las enzimas fosfatasas, que hidrolizan compuestos como ésteres de fosfato liberando fosfato disponible para la nutrición de las plantas. El grado de mineralización está determinado por condiciones del suelo como el pH, al afectar el metabolismo microbiano, por lo que valores cercanos a la neutralidad favorecen la liberación de fosfatos, ésta es la importancia de aplicar enmiendas como el encalado a suelos donde la acidez limita la disponibilidad de P. Con el propósito de suplir tal deficiencia en Andisoles caucanos, los agricultores encalan progresivamente, volviéndose insostenible la producción y contribuyendo a la contaminación de las fases ambientales, además de alterar las condiciones normales de estos suelos afectando su actividad microbiana y por ende su actividad enzimática ^{[2], [3]}.

No se conocen estudios referentes al efecto del encalamiento sobre la actividad enzimática de la Fosfatasa alcalina en estos Andisoles. Por esta razón es de gran importancia e interés valorar el efecto que produce el encalamiento sobre la actividad de esta Fosfatasa y la relación entre la actividad de dicha enzima con la disponibilidad de P.

De acuerdo a las anteriores consideraciones se plantean las siguientes hipótesis de trabajo:

1. En Andisoles del Cauca fuertemente ácidos, la actividad de la Fosfatasa alcalina es baja, siendo alta la deficiencia de P y predominado la forma de P orgánico.
2. El encalamiento incrementa la actividad de la Fosfatasa alcalina y la disponibilidad del P.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina, su relación con la mineralización del P orgánico y con la disponibilidad de este nutriente en muestras de un Andisol del departamento del Cauca.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar física y químicamente el suelo Andisol proveniente de la Finca Santa Rosa, Vereda La Aurelia, Municipio de Cajibío, Departamento del Cauca.
- Evaluar el requerimiento de cal, necesario para ajustar el pH a 5.2 y 5.5 en el suelo bajo estudio.
- Implementar un método colorimétrico para la determinación de la actividad de la Fosfatasa alcalina.
- Evaluar el efecto de Cal Dolomita y Cal Agrícola sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina.
- Evaluar la correlación entre la actividad de la Fosfatasa alcalina con el P disponible y P orgánico del suelo, a diferentes valores de pH.

3. FUNDAMENTO TEÓRICO

3.1 ANDISOLES

El desarrollo de los suelos, además de estar influenciado por las condiciones y alteraciones del clima, se ve afectado por modificaciones provenientes de ceniza volcánica. En Colombia existen diversas áreas ubicadas en zonas con actividad volcánica lo que ha permitido la formación de suelos denominados Andisoles, distribuidos sobre la región Andina, especialmente en la cordillera Central y en menor proporción en la cordillera Occidental y Oriental. Abarcan gran parte del departamento del Cauca y se caracterizan por una fuerte acidez y alta capacidad para inmovilizar el fósforo en la superficie de los minerales amorfos que lo componen ^[4].

Los Andisoles fundamentalmente están formados por 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. Estos suelos están conformados por arcillas amorfas como alófana, imogolita y complejos humus-Al que además de tener superficies muy reactivas provenientes de la meteorización de las deposiciones volcánicas, aportan las propiedades de éstos suelos. Presentan alto porcentaje de retención de humedad, baja densidad aparente, pH ácido, bajo porcentaje de saturación de cationes intercambiables y altos contenidos de materia orgánica en diferentes grados de humificación en directa relación con la pluviometría y temperatura propia de cada zona ^[4]. 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 ^[5]. Además, tienen una moderada capacidad de intercambio y una alta capacidad tampón, es decir, resistencia al cambio de pH, factores que complican la determinación del requerimiento de cal ^{[3], [6]}.

Las anteriores características de este suelo influyen en su fertilidad, por tanto en la disponibilidad de nutrientes y en el óptimo desarrollo de las plantas.

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 ^[7].

A esta capacidad de poder suministrar condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo adecuado de las plantas se conoce como fertilidad del suelo y es una cualidad resultante de la interacción de las características físicas, químicas y biológicas del mismo ^[7]. Estas propiedades bioquímicas y microbiológicas son muy importantes para definir las principales funciones edáficas: productiva, filtrante y degradativa. Por tanto, la actividad biológica y bioquímica del suelo es de importancia fundamental en el mantenimiento de la fertilidad de los hábitats terrestres y consecuentemente del funcionamiento de los ecosistemas forestales y agrícolas.

Este suministro de condiciones óptimas para los cultivos está determinada por varios factores como la disponibilidad del agua, el tipo de suelo, la cantidad de materia orgánica, los organismos vivos del suelo, la capacidad para almacenar las sustancias nutritivas y en especial el valor de pH, debido a que la mayor solubilidad de gran parte de los nutrientes se encuentra entre un pH de 5,5 y 7.

Suelos con pH excesivamente ácidos presentan poca disponibilidad de nutrientes como P, Ca, Mg, K, Mo y aumentan la solubilización de Zn, Cu, Fe, Mn y Al, que en función al manejo de suelo y fertilizantes aplicados pueden alcanzar niveles tóxicos para las plantas alterando la actividad de microorganismos que además de ser un factor clave en la fertilidad del suelo lo son también en la estabilidad y funcionamiento de ecosistemas naturales ^[8].

La actividad biológica y bioquímica del suelo son imprescindibles en el mantenimiento de la fertilidad de los agroecosistemas y en unión con las demás propiedades influyen en la calidad del suelo. ^[9].

3.3 CALIDAD DEL SUELO

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 ^[10].

No obstante, a pesar de la importancia para la vida, el suelo no ha recibido la atención que merece y cada vez se hace mayor su degradación conllevando a serias amenazas para el futuro. Recientemente y conciente de éste incremento, se ha generado interés por encontrar una medida para intensificar, preservar e incrementar la calidad del suelo; para ello, se hace necesario contar con una sólida concepción de la calidad y con indicadores de calidad o salud del suelo y de manejo sostenible de la misma. Esta labor sin embargo, presenta una gran

dificultad ya 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 ^[11].

3.4 INDICADORES DE LA CALIDAD DEL SUELO

La preocupación creciente acerca de la degradación del suelo, de la disminución en su calidad y de su impacto en el bienestar de la humanidad y el ambiente, hace que se requieran criterios universales para evaluar los cambios en la calidad del suelo. Para lograrlo, es preciso contar con variables que puedan servir para evaluar la condición del suelo. Estas variables se conocen como indicadores, pues aportan información acerca de los cambios o tendencias de condiciones en el suelo ^[5].

Los indicadores de la calidad del suelo pueden ser propiedades físicas, químicas, biológicas o procesos que ocurren en él. Algunas de las características físicas del suelo que pueden ser usadas como indicadores de su calidad son la estructura, densidad aparente, capacidad de almacenamiento de agua, en tanto que las propiedades químicas pueden ser la disponibilidad de nutrientes, C orgánico total, C orgánico lábil, pH, capacidad de adsorción de fosfatos, CIC, cambios en la MO, N total y N mineralizable. Entre las biológicas se encuentran funciones como la tasa de respiración, % de ergosterol y otros subproductos de los hongos, tasas de descomposición de los residuos vegetales, N y C de la biomasa microbiana ^[7].

Además de los indicadores mencionados, una de las numerosas formas de medir la calidad del suelo es a través de la actividad enzimática. Dicha actividad está asociada a condiciones que promueven la síntesis de enzimas microbianas, estabilización y preservación de enzimas extracelulares. La actividad enzimática es un sensible y efectivo indicador de los cambios en la calidad del suelo por preceder a la acumulación de materia orgánica ^[12].

Los indicadores candidatos a cuantificar la calidad del suelo se deben caracterizar por ^[2], ^[11]:

- Describir procesos del ecosistema
- Ser fácilmente medibles
- Ser 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

Cuando sea posible, los indicadores deben ser componentes de una base de datos del suelo ya existente, estas características son cumplidas a cabalidad por los microorganismos que habitan en el suelo.

3.4.1 MATERIA ORGANICA

La Materia Orgánica del Suelo (MOS) es considerada como el indicador más significativo de la calidad del suelo, tanto en sus funciones agrícolas (p. ej. producción y economía) como en sus funciones ambientales, entre ellas la captura de carbono y calidad del aire. Es la principal determinante de la actividad biológica del suelo ^{[13], [14]}.

La MO consiste en residuos vegetales en diversas fases de descomposición y restos de organismos y microorganismos que viven en el suelo y sobre él. El contenido y calidad de la materia orgánica, depende del tipo de suelo, su manejo agronómico, el tipo de vegetación y las características climáticas ^[13].

Es uno de los componentes del suelo más complicados que existen en la naturaleza, complejidad que se refleja en su composición química. Por ello, se dice que la MOS, contiene probablemente la mayor parte de 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 ^[15].

La MO se puede clasificar en biótica y abiótica. La MO abiótica corresponde a la mayor parte de la materia orgánica y está constituida por una parte más lábil y disponible como fuente energética y nutriente (C lábil), y una parte polimérica, compleja y más estable en el tiempo que corresponde al humus. La materia orgánica biótica está constituida por organismos vivos presentes en el suelo (microfauna y microorganismos como bacterias, hongos y actinomicetes) y a pesar de representar menos del 1% de la MO es responsable de la bioactividad que da lugar a la disponibilidad de nutrientes ^[9].

Por tanto, la MO 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.

3.4.1.1 Efectos de la Materia Orgánica sobre las Características Físicas, Químicas y Biológicas del Suelo

➤ 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, debido a que las partículas de cortezas 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. Dado 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, además, de tolerar mejor los efectos mecánicos del paso de maquinaria por tener una mayor elasticidad que la materia mineral. Al cohesionar los suelos arenosos contribuye a reducir las pérdidas de suelo por erosión superficial ^[13].

Existen numerosos estudios sobre la mejora de las mencionadas características tras el aporte de materia orgánica, aunque no queda bien claro qué estadio de la materia orgánica favorece qué proceso ^[13].

La MO tiene también efectos importantes sobre la temperatura del suelo. 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 ^[13].

➤ Características Químicas.

La MO tiene un papel importante en la mejora de la disponibilidad de micronutrientes (principalmente Fe, Mn, Zn y Cu) 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 ^[13].

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 ^[13].

La MO contiene un número elevado de grupos funcionales (carboxílicos, hidroxílicos, aminoácidos, amidas, cetonas y aldehídos). Los grupos carboxílicos son 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 proporcionan capacidad de intercambio catiónico, contribuyendo por tanto a aumentar la materia orgánica 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) ^[13].

La MO suele acidificar el medio, favoreciendo así indirectamente la absorción de nutrientes por las plantas ^[13].

➤ **Características Biológicas.**

La MO sirve de fuente de energía para los microorganismos del suelo, favoreciendo 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. ^[13].

La MO 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 ^[13].

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 ^[16]. Además la MO cumple un papel importante en la absorción de pesticidas aplicados al suelo ^[13].

3.4.2 MICROORGANISMOS

La fertilidad y el funcionamiento de los suelos dependen en gran proporción de las propiedades bioquímicas y microbiológicas del mismo, debido a que el suelo cuenta con una gran biodiversidad y una elevada carga enzimática y bacteriana que aumenta la solubilización de los nutrientes haciendo que puedan ser asimilables por las plantas^[10].

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 ciclo de nutrientes y carbono en la escala global^[17].

Los microorganismos se ubican en su mayor parte en los horizontes superficiales, donde aprovechan la temperatura para favorecer las reacciones metabólicas, sin embargo, hay otros que se distribuyen a lo largo del perfil del suelo e incluso son encontrados en capas profundas, sobretodo los anaeróbicos^[18].

Los microorganismos del suelo son componentes integrales del sistema suelo-planta e importantes en la influencia de nutrientes como el fósforo en la planta. La importancia de los microorganismos en el ciclo de nutrientes en el suelo y su papel en la nutrición de plantas ha sido ampliamente estudiada. Ellos son parte activa en la descomposición y mineralización de la MO^[11].

3.4.2.1 Importancia de los Microorganismos

Los microorganismos, tienen diferentes funciones en el suelo, especialmente en lo referente a la liberación de nutrientes y otras propiedades físicas del mismo por lo que los grupos más importantes lo constituyen las bacterias y los hongos y en menor medida otros microorganismos como las algas, los virus y los protozoos^[18].

Los microorganismos desarrollan una amplia gama de acciones que inciden en el desarrollo y nutrición vegetal. Sin embargo, el nivel de actividad de las poblaciones microbianas de diversos suelos es muy bajo, excepto en un microhábitat donde haya una suficiente cantidad de fuente de carbono metabolizable (C-lábil). Cuando se introducen plantas en el sistema, la situación de los microorganismos cambia drásticamente, ya que las plantas son las principales suministradoras de sustratos energéticos al suelo, de los que estos organismos se aprovechan cuando se encuentran en la zona próxima a la raíz y proliferan en ella^{[10],[11]}.

Además de éste efecto sobre el ciclo de nutrientes, los microorganismos también afectan las propiedades físicas y químicas del suelo. Estudios realizados en el suelo sobre la producción de polisacáridos extracelulares y otros detritos celulares aseguran que los microorganismos ayudan a mantener la estructura del suelo porque estos materiales funcionan como agentes cementantes 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^[19].

Según Pankhurst *et al.*, 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 proponen 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^[20].

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^[20]. 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. Carter *et al.* (1999) reportaron que ésta tasa es mucho más rápida (1-5 años) que el cambio en el contenido total de la MO del suelo^[21].

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.^[22].

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 debido a que los microorganismos pueden afectar el suministro de P a las plantas superiores a través de la descomposición de compuestos orgánicos de P, por medio de la

inmovilización de los fosfatos disponibles y promoviendo la solubilización de las formas minerales insolubles o fijadas (agentes quelantes) ^[23].

La función de los microorganismos en el suelo, especialmente la de algunos grupos definidos, puede ser manipulada para permitir que determinadas actividades microbianas, bioquímicas y enzimáticas se expresen de forma eficaz entonces pueden jugar un papel preponderante como indicadores de calidad y salud de los suelos ^[11].

3.5 FÓSFORO

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, expresado técnicamente en forma de P_2O_5 y asimilado por las plantas en forma de $H_2PO_4^-$ ó HPO_4^{2-} . Participa en muchas fases del metabolismo celular ya que hace parte de estructuras como ácidos nucleicos: DNA y RNA, 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 ^[24].

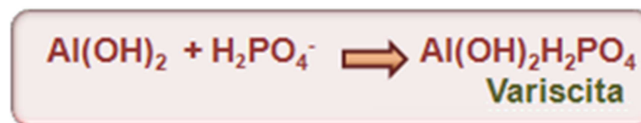
El P forma parte de las rocas y los minerales del suelo, es considerado como uno de los nutrientes más importantes para el desarrollo y crecimiento tanto de las plantas como de los microorganismos. Aunque es absorbido en mínimas cantidades por las plantas en forma de fosfatos mono y diácidos, una deficiencia de éste elemento puede llevar a manifestaciones de signos en hojas, influir en el crecimiento haciéndolo lento y retrasando la maduración, generando así, un menor desarrollo radicular y una menor floración, por tanto, el P es un factor limitante del rendimiento ^[25].

Sin embargo, a pesar de su importancia el P está en bajas concentraciones en el suelo y más aún, mucho del P presente no está en forma disponible para las plantas. Este fenómeno se hace más notorio en aquellos suelos que presentan alta capacidad de retención de P como los Andisoles por lo que se hace necesaria la adición de fósforo a través de fertilizantes ya sean minerales u orgánicos ^[25].

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 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 ^[26].

El fósforo se encuentra en los suelos tanto en formas orgánicas ligadas a la materia orgánica, como inorgánicas que es la forma como la absorben los cultivos. La solubilidad de estas formas y por lo tanto su disponibilidad para las plantas está condicionada por reacciones fisicoquímicas y biológicas, las que a su vez afectan la productividad de los suelos. A continuación se presenta una de las reacciones de precipitación de P que limitan la disponibilidad de este elemento en suelos ácidos ^[26].

Figura 1. Reacción de precipitación de P en suelos ácidos



Las transformaciones del fósforo entre formas orgánicas e inorgánicas están estrechamente relacionadas, dado que el fósforo inorgánico es una fuente tanto para los microorganismos como para las plantas y el fósforo orgánico al mineralizarse repone el fósforo de la solución ^[27].

3.5.1 FÓSFORO INORGÁNICO

Las plantas absorben el fósforo casi exclusivamente en la forma inorgánica, que está en la solución del suelo. De esta manera, el P inorgánico disuelto satisface la demanda de los cultivos durante el período de crecimiento, aún en suelos con un buen abastecimiento de este nutriente. Por lo tanto, el fósforo deprimido en la solución debe ser repuesto constantemente a partir de formas fácilmente extraíbles, tanto orgánicas como inorgánicas, donde la desorción-disolución y mineralización–inmovilización son procesos críticos en el abastecimiento del fósforo ^[27].

Los fosfatos se forman a partir de la sustitución de los iones hidrógeno del ácido fosfórico por cationes, formando sales como: ^[27]

➤ **Ácido fosfórico insoluble de la roca madre o retrogradado**

Representa la gran mayoría del fósforo total del suelo, siendo inútil para la planta. Sin embargo, es la reserva general a partir de la cual tras muchas y lentas transformaciones físico-químicas o biológicas, una pequeña parte de aquel pasa a la solución del suelo al final del proceso.

Los minerales fosfatados insolubles en el suelo son esencialmente fosfatos tricálcicos (apatita), fosfatos magnésicos y fosfatos de hierro y de aluminio.

➤ **Ácido fosfórico precipitado o formando compuestos pocos solubles**

En los suelos ácidos es muy posible la precipitación de los fosfatos de hierro y aluminio y en los suelos muy calizos, la precipitación de fosfato de cal. Sin embargo, no se trata de formas insolubles indefinidamente.

Las variaciones del pH, la acción de la materia orgánica, la actividad microbiana o la capacidad de algunas especies de absorberlos directamente, pueden hacer que los fosfatos, temporalmente insolubles, intervengan en la nutrición fosfatada de las plantas.

➤ **Ácido fosfórico fijado en arcillas y en óxidos de hierro y aluminio**

Los iones fosfóricos pueden fijarse al complejo arcilloso-húmico y en particular, sobre las arcillas por medio del calcio. El suelo deja en reserva una parte del fósforo de los abonos y lo devuelve después a la solución del suelo a medida que la planta va agotando esta solución por la absorción de una parte de dichos iones. Los iones fosfatos fijados en la arcilla cálcica son fácilmente recuperables. La cantidad de fósforo absorbido depende del contenido de arcilla, de su capacidad de cambio y del pH, es decir, de la cantidad de iones Ca presentes.

Existen también en el suelo hidróxidos de hierro y aluminio especialmente en los suelos ácidos, que se comportan como coloides electropositivos y pueden fijar iones fosfato que pasarán después a la solución del suelo, pero más lentamente que los que se fijan sobre la arcilla. Se dice que son iones menos cambiables.

➤ **Ácido fosfórico en la solución del suelo**

Al final de las transformaciones y cambios continuos que se efectúan en el suelo, se tiene la fracción menor y más importante del fósforo para la planta, dado que son estos iones fosfóricos disueltos los que absorbe la planta principalmente.

Existe un estado de equilibrio permanente y rápido entre los iones disueltos en la solución del suelo y aquellos absorbidos que constituyen el conjunto de los iones isotópicamente cambiables. Representan la fracción del fósforo total considerado como la reserva alimenticia que corresponde al ácido fosfórico asimilable o cambiante, indicado por los análisis clásicos.

➤ **Ácido fosfórico orgánico**

El fosfato orgánico representa una parte variable pero importante del fosfato total. Se trata de una reserva que se moviliza fácilmente por mineralización del humus liberando fósforo en forma mineral.

3.5.2 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.

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. 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 ^[29].

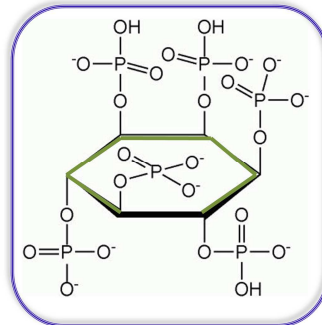
La principal fuente del P unido a compuestos orgánicos está constituida por los residuos vegetales y animales que se adicionan al suelo. Constituye entre el 30 y 50% del P total en la capa arable dependiendo de factores tales como la temperatura, precipitación pluvial, acidez del suelo, grado de desarrollo, material parental y drenaje entre otros ^[29].

El P de la MO en el suelo está constituido por fitatos o formas similares, ácidos nucleicos y sus derivados y fosfolípidos. La fitina es principalmente hexametáfosfato de inositol. Mucho de este fosfato se presenta en formas de polímeros, algunos de éstos pueden atribuirse a los microorganismos ^[19].

➤ **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 2.

Figura 2. Estructura del hexafosfato de inositol



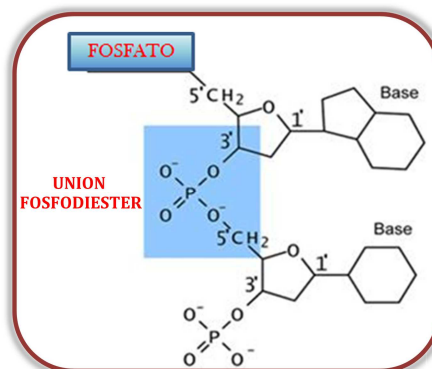
Los fosfatos de inositol son importantes componentes de granos de cereales en forma de fitatos de calcio y magnesio denominados fitina. Los hexafosfatos de inositol encontrados en el suelo pueden ser también de origen microbiano puesto que varios microorganismos pueden sintetizar esta molécula ^[30].

En las plantas pueden encontrarse además ésteres de inositol con uno a cinco fosfatos, aunque el hexafosfato es el más abundante ^[30].

➤ **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 3 se muestra una representación de los ácidos nucleicos.

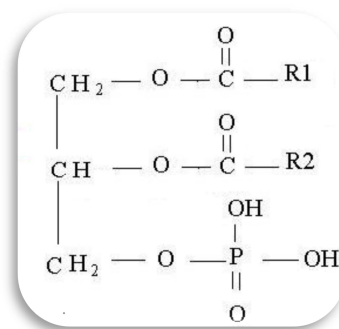
Figura 3. Representación de los ácidos nucleicos.



➤ 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 5 µg/g. Los fosfolípidos representan entre el 0.5 y el 7% del fósforo orgánico con un valor medio del 1% [2]. Su fórmula general se relaciona en la figura 4.

Figura 4. Fórmula general de los fosfolípidos



➤ Fosfoproteínas

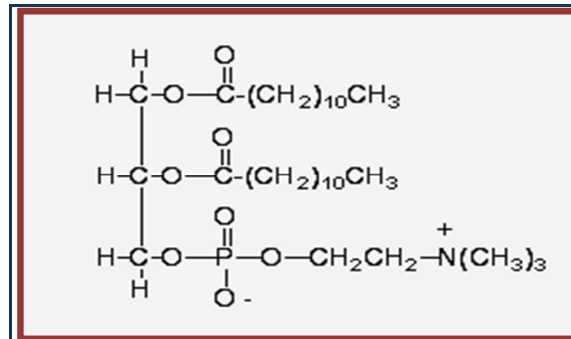
Son heteroproteínas que al hidrolizarse producen además de los aminoácidos, un grupo inorgánico denominado "grupo prostético" como el fosfato [2].

➤ Fosfatos metabólicos

Los 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 y aseguran el transporte de los ácidos grasos de que tiene necesidad el organismo, después de haberlos transformado en lecitinas [2]. La lecitina es una fosfatidilcolina cuya fórmula se relaciona en la figura 5.

Figura 5. 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^[30].

3.5.2.1 Mineralización de Fósforo Orgánico

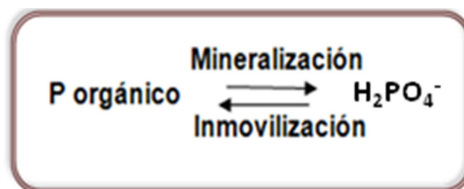
Los microorganismos del suelo son componentes integrales del sistema suelo-planta y en particular importantes en la influencia de nutrientes como el fósforo, pueden afectar el suministro de P a las plantas superiores a través de la descomposición de compuestos orgánicos de P a través de la inmovilización 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^[31].

El proceso de mineralización enfatiza el papel de los microorganismos en la conversión del P orgánico a P inorgánico. Estos microorganismos son abundantes en el suelo rizósfero y por su acción se liberan los iones fosfatos que pueden ser aprovechados por las plantas^[20].

La mineralización de la MO es lenta y requiere de temperaturas de aproximadamente 25 a 30 °C, pH neutro y humedad cercana a la capacidad de campo. El proceso de mineralización está regido por la relación C/P de la MO, cuyo valor crítico es aproximadamente 200. Por encima de este valor se produce depresión del fosfato inorgánico^[21].

El nivel de fosfato soluble en el suelo depende de dos procesos opuestos, como se muestra en la figura 6.

Figura 6. Procesos de la solubilidad de fosfatos



La mineralización de fitatos es relativamente lenta y es una fuente importante de H₂PO₄⁻ para las plantas, ya que la actividad de fitasas es común entre el suelo, los microorganismos y los 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 parte orgánica lábil de P experimenta una rápida transformación y contribuye a la disponibilidad de P para las plantas a través de la mineralización [22].

La mineralización y la inmovilización de P orgánico como un proceso biológico está fuertemente influenciado por diversas propiedades físicas y químicas del suelo e inducidas por el hombre, así la alta presencia de cultivos incrementa la tasa de mineralización dado que las plantas son fuente de MO en el suelo, la temperatura y/o humedad elevada favorecen la descomposición microbiana, los pH demasiados altos o bajos disminuyen el metabolismo de microorganismos y las condiciones aeróbicas o anaeróbicas del suelo hacen que los microorganismos varíen su actividad para hidrolizar los fosfatos orgánicos [32], [33].

El grado de mineralización también está afectado por la relación directa entre la cantidad y calidad de sustrato y la tasa de mineralización, por lo que en niveles altos de P orgánico se encuentra una población microbiana más activa y esta a su vez se ve afectada por la actividad de enzimas [20].

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. En la tabla 1 se presentan los límites establecidos para determinar la mineralización y la inmovilización.

Tabla 1. Límites para determinar la mineralización e inmovilización del P.

RELACION C/P	%P	MINERALIZACIÓN-INMOVILIZACIÓN
< 200	>0.3	Mineralización neta de P orgánico
200-300	0.2-0.3	Ni ganancia ni pérdida
>300	< 0.2	Inmovilización neta de P inorgánica

Algunos estudios han demostrado que los cultivos estimulan la mineralización del fósforo orgánico y que el aumento del grado de mineralización después de la adición de P inorgánico permite al P orgánico ser más fácilmente desfosforilado por acción enzimática debido a que el P desplazado se enlaza al Fe, Al y Ca^[31].

3.6 ENZIMAS

Las enzimas son proteínas cuya función es catalizar las reacciones químicas en los sistemas vivos sin experimentar cambios en sí. Actúan sobre sustratos específicos transformándolos en productos necesarios para los ciclos biológicos a temperaturas y presiones a las que normalmente estos procesos no tendrían lugar^[35].

Las enzimas son elaboradas por células vivas, pero pueden actuar independientemente de estas. Tienen la particularidad de ser específicas para los tipos de reacciones en las cuales participan. La especificidad de las enzimas frecuentemente está dada por la naturaleza de los grupos ligados a los enlaces susceptibles^[36].

En una reacción catalizada por enzimas (E), los reactivos se denominan sustratos (S), es decir, la sustancia sobre la cual actúa el enzima. El sustrato es modificado químicamente y se convierte en uno o más productos (P). Dado que ésta reacción es reversible se expresa de la siguiente manera:



La especificidad de los enzimas se determina cuando las moléculas del sustrato se unen a un sitio específico en la superficie del enzima (sitio activo), donde sólo puede entrar un determinado sustrato (ni siquiera isómeros) y tiene lugar la catálisis.

Los enzimas se han agrupado según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, 1979) y la Unión Internacional de Bioquímica, en seis clases principales que son: oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. Estas denominaciones corresponden a los sustratos en los cuales éstos ejercen.

Es importante resaltar que organismos y plantas pueden liberar enzimas al suelo por secreción y por lisis celular después de su muerte, por lo que varios tipos de enzimas están presentes en este compartimiento ambiental. Las enzimas del suelo más estudiadas son las oxidoreductasas (deshidrogenasas, catalasas y peroxidasas) y las hidrolasas (sobre todo fosfatasas, proteasas y ureasa).

3.6.1 ENZIMAS DEL SUELO

El conocimiento sobre las enzimas del suelo es hoy en día una línea de investigación de futuro para conocer su funcionalidad y sostenibilidad.

El funcionamiento de los ecosistemas y en especial del suelo no puede ser entendido correctamente sin la participación de los procesos enzimáticos ya que las enzimas determinan en gran parte, las transformaciones bioquímicas que en él se producen, mediando y catalizando procesos como la mineralización y ciclaje de nutrientes, descomposición y formación de la materia orgánica y descomposición de materiales xenobióticos ^[37].

Las enzimas del suelo pueden ser extracelulares, como las fosfatasas, las cuales son liberadas durante el metabolismo y muerte celular, ó intracelulares como las deshidrogenasas, que forman parte de la biomasa microbiana. Estas enzimas son producidas por microorganismos como bacterias, hongos, protozoarios o pueden ser de origen animal o vegetal entre ellos, raíces, residuos de plantas, residuos de tracto digestivo de meso y macrofauna del suelo. Existen 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 ^[38].

Estas enzimas están estrechamente relacionadas con las propiedades físicas, químicas, biológicas y ofrecen por tanto información sobre cambios en ellas, dado que permiten determinar la capacidad potencial del suelo para llevar a cabo algunas reacciones específicas que son importantes en el ciclo de nutrientes como el C, N, P y S. Además, las enzimas 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, además de contribuir a la detoxificación del mismo degradando contaminantes orgánicos o inmovilizando metales pesados por lo que pueden influir negativa o positivamente en el crecimiento de las plantas y en la formación de la estructura del suelo ^[39].

Las enzimas del suelo muestran una gran sensibilidad frente a procesos no deseables tales como la contaminación de suelos, su degradación e incluso su desertificación. 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). De ahí que las enzimas del suelo (su existencia o deficiencia) pueden ser consideradas como una “alerta” ante un posible colapso ambiental, permitiendo entonces, reaccionar a tiempo antes de que pueda ocurrir un daño irreversible para el suelo ^[40].

En el suelo se han detectado numerosas enzimas, pero se han evaluado sólo algunas, entre ellas fosfatasas ácidas y alcalinas, arilsulfatasas, celulasas y ureasas, deshidrogenasas, oxidoreductasas, transferasas y liasas ^[41].

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 ^[1].

3.6.2 MEDIDAS DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS

Todas las medidas realizadas sobre las actividades enzimáticas en general, se consideran medidas potenciales ya que se miden "in Vitro", bajo condiciones óptimas de temperatura y pH. Sin embargo, la información que ofrecen permite ampliar los conocimientos sobre los procesos bioquímicos que se llevan a cabo en el suelo.

Los ensayos de actividad enzimática proporcionan información sobre la microbiota del suelo. 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. 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 ^[31].

Las actividades enzimáticas ayudan a monitorear el funcionamiento del suelo respondiendo a la necesidad de entender los efectos positivos o negativos e interacciones de los procesos que suceden dentro de esta matriz. Pueden emplearse como medida de la actividad microbiana, de la productividad del suelo y del efecto inhibitorio de contaminantes dado que son el resultado de actividades asociadas a varios componentes tanto bióticos como abióticos ^[37].

Las estimaciones de la actividad enzimática han sido utilizadas con diferentes propósitos en los estudios realizados sobre el tema: como indicadores de productividad, medida indirecta de la biomasa microbiana, para comparar efectos rizosféricos como índice potencial del suelo para descomponer distintos materiales orgánicos, como indicadores de posible contaminación con metales pesados, pesticidas, etc. ^[42].

3.7 FOSFATASAS

Las fosfatasas son uno de los tipos de enzimas más estudiadas, fundamentalmente por las funciones que desempeñan tanto en la degradación de la materia orgánica como en el ciclo del fósforo. Así, en los suelos ácidos de trópicos y subtropicos, caracterizados por una baja disponibilidad de P para las plantas, es importante el rol que cumplen las mismas en la mineralización del P orgánico, constituyendo una variable promisoría para estimar la calidad del suelo ^[43].

El término fosfatasas se utiliza para designar de manera general a un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de esteres y anhídridos del ácido fosfórico Su nombre se debe al sustrato base con el sufijo “asa” ^[44].

La Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica ha clasificado a las fosfatasas de acuerdo al tipo de enlace y a los compuestos sobre los cuales actúan como ^[44]:

- Fosfatasas que actúan sobre enlaces de tipo éster que a su vez se dividen en: monoésterfosfato hidrolasas, diésterfosfato hidrolasas, trifosfato monoéster hidrolasas, difosfato monoéster hidrolasas y triésterfosfato hidrolasas
- Enzimas que actúan sobre anhídridos ácidos, en anhídros que contengan grupos fosfato como por ejemplo, la *adenosin trifosfatasa* y la *pirofosfatasa*
- Enzimas que actúan sobre el enlace P-N, como la *fosfoamidasa*
- Enzimas que actúan sobre enlaces C-N, como la *fosfonoacetato hidrolasa*

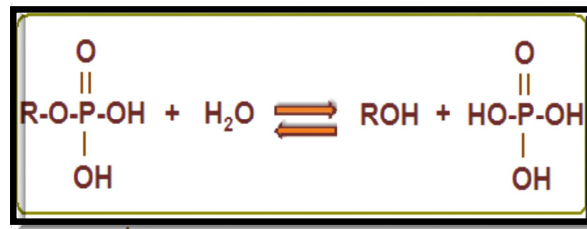
Las monoésterfosfato hidrolasas, especialmente las fitasas y las fosfomonoesterasas, son las fosfatasas más estudiadas debido en gran parte a los métodos de estimación y además porque 60% de fósforo orgánico que se ha identificado en el suelo corresponde a fosfatos de inositol ^[45]. En la transformación de este fósforo, los organismos desempeñan un papel fundamental a través de la secreción de enzimas. Estas enzimas constituyen un índice de la potencialidad del suelo para mineralizar el P orgánico y estimar la actividad biológica de los suelos ^[1].

En el grupo de las monoésterfosfato hidrolasas están las fosfatasas alcalinas y las fosfatasas ácidas conocidas como fosfomonoesterasa alcalina (E.C. 3.1.3.1) y fosfomonoesterasa ácida (E.C. 3.1.3.2), que son dos enzimas inespecíficas que

catalizan la hidrólisis de glicerofosfato y se diferencian por su pH óptimo de actuación ^[1].

La ecuación general de la reacción se muestra a continuación ^[28]:

Figura 7. Reacción catalizada por la Fosfatasa alcalina y ácida



Estas fosfatasas pueden ser sintetizadas tanto por la flora micótica y las bacterias, las cuales producen fosfatasas alcalinas, como por las raíces de las plantas capaces de producir fosfatasas ácidas y alcalinas, aunque gran parte de la actividad mineralizadora del P orgánico ha sido atribuida a las micorrizas.

Se sabe que los microorganismos involucrados en procesos de descomposición, también son capaces de producir fosfatasas por lo que el papel potencial de las enzimas producidas por estos organismos en la mineralización de compuestos orgánicos de fósforo es de gran importancia ecológica ^[13].

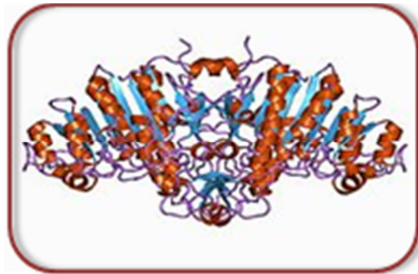
La Fosfatasa ácida puede estar presente en suelos con pH alrededor de 4 a 6.5 mientras que las alcalinas en un rango 9 a 10. Sin embargo, pueden encontrarse simultáneamente en el suelo ^[1]. Las Fosfatasas ácidas predominan en suelos ácidos y las Fosfatasas alcalinas en suelos alcalinos ^[37].

Dado que la actividad de la fosfatasa es sensible a las perturbaciones ambientales tales como enmiendas orgánicas, la compactación, la adición de fertilizantes, la labranza, los insumos de metales pesados y pesticidas se utiliza a menudo como un indicador ambiental de la calidad del suelo en los ecosistemas.

3.7.1 FOSFATASA ALCALINA

Las Fosfatasas alcalinas son isoenzimas, pertenecientes al grupo de las fosfomonoesterasas inespecíficas que catalizan la liberación de ácido fosfórico de algunos ésteres monofosfóricos, permitiendo la disponibilidad de P para la nutrición de las plantas.

Figura 8. Estructura de la Fosfatasa alcalina



La Fosfatasa alcalina (orto-fosfórico-monoéster hidrolasa) es un ejemplo de enzima que contiene en su estructura los elementos zinc y magnesio y cuya actividad puede ser medida por un método colorimétrico, debido a que la transformación del sustrato p-nitrofenilfosfato (p-NFP) excinde en p-nitrofenol (p-NF), un producto de color amarillo que absorbe en la región visible.

La importancia de la Fosfatasa alcalina en biología molecular y medicina ha hecho que esta enzima sea objeto de estudio científico y tenga amplia utilidad comercial.

Esta fosfatasa ha sido analizada en diversos organismos y su amplia distribución en la naturaleza muestra que estas enzimas están incluidas en procesos bioquímicos fundamentales, además de ser indispensable para la formación del hueso, ya que su secreción o actividad indica la formación de éste o el inicio de la etapa de diferenciación ^[45].

La Fosfatasa alcalina es una enzima relativamente termolábil pues su resistencia a los tratamientos térmicos es un poco mayor que la de los microorganismos patógenos no formadores de esporas, los cuales pueden estar presentes en muchos alimentos. Tradicionalmente la determinación de la actividad de esta enzima ha servido para comprobar si el tratamiento térmico de pasteurización se ha realizado correctamente ^[46].

La Fosfatasa alcalina está presente en muchos organismos vivos y puede ser sintetizada en un tipo de osteoblastos, siendo sus fuentes principales el hígado, hueso, intestino, placenta y riñón y está relacionada con enfermedades óseas y hepatobiliares. Estas enzimas proceden de la ruptura normal de las células sanguíneas y de otros tejidos, muchas de ellas no tienen un papel metabólico en el plasma excepto las enzimas relacionadas con la coagulación y con el sistema del complemento. Es una enzima hidrolasa responsable de eliminar grupos de fosfatos de varios tipos de moléculas como nucleótidos, proteínas y alcaloides, proceso que se denomina como desfosforilación ^[47].

Por otro lado, como se expresó anteriormente las Fosfatasas alcalinas también pueden ser en su mayoría sintetizadas por la flora microbiana y por las bacterias,

más no por material vegetal en descomposición como ocurre con la Fosfatasa ácida. En las bacterias, la Fosfatasa alcalina se encuentra en el espacio periplasmático, externo a la membrana celular. Desde este lugar son más susceptibles a la variación ambiental. La Fosfatasa alcalina bacteriana es relativamente resistente a la inactivación, la desnaturalización y degradación. Aunque el propósito real de la enzima es todavía desconocido, se sabe que es un medio de las bacterias para generar grupos libres de fosfato, los cuales son necesarios en su desarrollo.

La Fosfatasa alcalina es una enzima producida por las bacterias del género *Streptomyces*. Este es el género más extenso de actinobacterias. Se encuentran predominantemente en suelos, en la vegetación descompuesta y la mayoría produce esporas (conidios) en los extremos de las hifas aéreas. Se distinguen por el olor a «tierra húmeda» que desprenden, resultado de la producción de un metabolito volátil, la geosmina. Algunas especies de *Streptomyces* poseen la capacidad de disolver fosfatos insolubles, dentro de los cuales se puede encontrar *Streptomyces griseus*^[48].

Entre las enzimas hidrolíticas, la actividad de la Fosfatasa alcalina ha sido frecuentemente usada como indicador de cambios en cantidad y calidad de la materia orgánica del suelo^[9].

3.7.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA DEL SUELO

La producción y actividad de las fosfatasas está influenciada por varios factores. La humedad, temperatura, salinidad, aireación, contenido de coloides orgánicos e inorgánicos del suelo, manejo agronómico, la vegetación, la calidad y cantidad de materia orgánica alteran la actividad enzimática^{[3], [6], [8], [15], [49]}.

De igual forma, algunos metales pesados que pueden ser producto de residuos de cosechas, industrias; activadores e inhibidores, utilizados comúnmente para corregir la acidez del suelo mediante el encalado afectan las propiedades químicas, biológicas del suelo y la actividad enzimática.

La actividad de las fosfatasas también se ve afectada por la presencia de fósforo orgánico y de fosfatos, debido a que las fosfatasas actúan si hay fuentes de P orgánico en el suelo tales como materia orgánica, el humus, los residuos y estiércoles; las síntesis de la fosfatasa se da en respuesta a las necesidades de liberación de las enzimas al medio exterior, es decir, en respuesta a la disponibilidad del P y aunque el P soluble influye en la producción de enzimas, se dice también que la adición de este disminuye la actividad enzimática^[50].

Además, teniendo en cuenta que las enzimas son proteínas, los cambios bruscos de pH alteran el carácter iónico de los grupos amino y carboxilo en la superficie

proteica, afectando las propiedades catalíticas de la enzima y por tanto la velocidad de la mineralización del P orgánico. A pH alto o bajo puede desnaturalizarse la enzima y por consiguiente inactivarse. La fosfatasa alcalina es más activa a valores de pH superiores a 9 por lo que se ve afectada por las prácticas de encalado en los suelos.

3.8 ENCALADO

La acidificación del suelo generada por fenómenos naturales, puede ser acelerada por las plantas, los animales y las actividades humanas. Esta acidificación es causada principalmente por la liberación neta de iones H^+ durante la transformación y el ciclo de tres elementos principales, el carbono (C), nitrógeno (N) y azufre (S) ^[51].

La acidez del suelo tiene efectos perjudiciales sobre las plantas, los organismos del suelo y la degradación del medio ambiente. Afecta sus características químicas y biológicas causando reducción en el crecimiento de las plantas, en la actividad de los organismos, en el ritmo de la mineralización de la MO y en la disponibilidad de nutrientes como Ca, Mg, K, P. Así mismo, permite la proliferación de elementos como Al, Fe y Mn que en cantidades altas pueden ser tóxicos para las plantas ^[51].

Para que los nutrientes puedan ser eficientemente aprovechados por los cultivos deben estar disponibles en el suelo en cantidades suficientes y en relaciones equilibradas, dado que suelos con pH excesivamente ácidos presentan poca disponibilidad. Para el logro y mantenimiento de esas condiciones de equilibrio así como para corregir el problema de la acidez del suelo es necesaria la aplicación de prácticas agronómicas en forma racional debido a que la mayor solubilidad de gran parte de los nutrientes se encuentra entre un pH de 5,5 a 7. Dentro de estas prácticas está el mejoramiento de la fertilidad del suelo con la adición de yeso, fertilizantes y cal ^[52].

La adición de cal, se conoce como encalado y es la base de gran parte de la agricultura moderna. Constituye una de las prácticas agrícolas más apropiadas y económicas dado que es esencial en la conservación y gestión sostenible de los suelos en todo el mundo ^[30].

Consiste en la adición de calcio y magnesio al suelo 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 tóxico de aluminio y manganeso. Sin embargo, es común que por desconocimiento no se utilicen los mejores criterios para la selección de materiales genéticos o para una aplicación provechosa de los materiales encalantes. La fertilización y corrección de la acidez de los suelos resultan satisfactorias cuando son realizadas en base a los resultados de análisis de suelo ^[30].

El encalado mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo a través de su efecto directo en el incremento del pH y su efecto indirecto sobre la movilización de algunos de los nutrientes, elementos mayores, la inmovilización de metales tóxicos, y mejoras en la estructura del suelo y conductividad hidráulica. Sin embargo, la aplicación del encalado supone un riesgo notable de provocar deficiencias en algunos micronutrientes fundamentales para la nutrición de las plantas, básicamente de boro, 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 estos elementos ^[30].

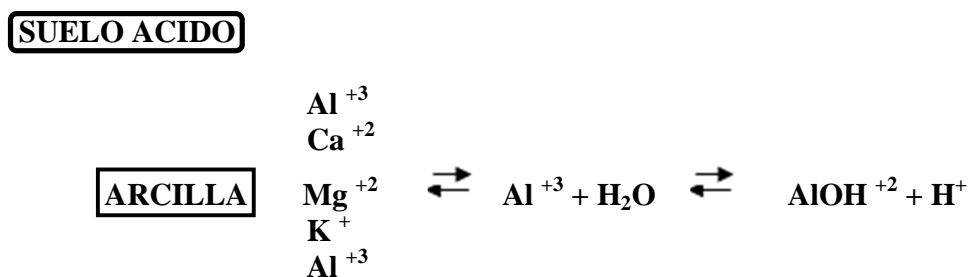
Entre las cales comúnmente empleadas en la región del Cauca se encuentran la Cal Dolomita, cuya composición está comprendida entre un 55% de CaCO_3 y 35 % de MgCO_3 ; la Cal Agrícola (CaCO_3) y el Calfos con una composición mínima de 12% de fósforo total, expresado como P_2O_5 ; 28% de calcio como CaO ; 0.14% de Magnesio como MgO y otros elementos adicionales como Manganeso, Zinc, Cobre, Cobalto, Boro, Molibdeno, con porcentajes variables.

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, sin embargo, aplicado correctamente proporciona resultados satisfactorios a corto y largo plazo.

3.8.1 EFECTOS DEL ENCALADO SOBRE LA DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO

Cuando se adiciona el carbonato de calcio a suelos ácidos ocurre una reacción entre el calcio y las formas activas de aluminio y hierro, asociados con las arcillas, como se observa a continuación ^[53]:

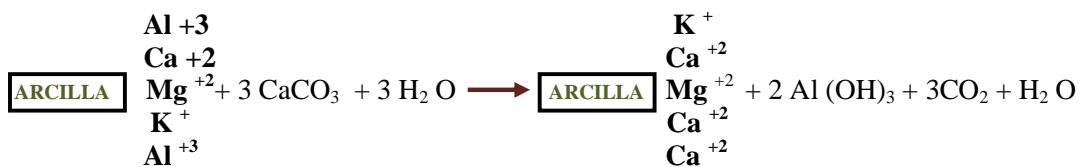
Figura 9. Reacciones de un suelo encalado



MATERIAL ENCALANTE



REACCIÓN DE ENCALADO



En el esquema anterior se deduce que el Ca no interviene en la neutralización de la acidez, sino más bien es el anión CO_3^{-2} el que al hidrolizarse produce iones OH^- que neutralizan los iones H^+ provenientes de la hidrólisis del Al y precipitan al mismo elemento ^[53].

El proceso reverso también puede ocurrir, debido a que los iones básicos como Ca, Mg y K pueden ser removidos del suelo por la absorción de las plantas o lixiviación, siendo reemplazados por Al. A medida que ocurre este proceso, se incrementa la actividad del H^+ y se reduce el pH del suelo. La acidificación progresiva del suelo es favorecida cuando se utilizan dosis altas de fertilizantes nitrogenados o amoniacales ^[53].

Después que el proceso de neutralización finaliza, las formas absorbentes del hierro y aluminio disminuyen; de ésta manera el proceso de inmovilización de fosfatos en suelos ácidos naturales decrece por acción de la enmienda.

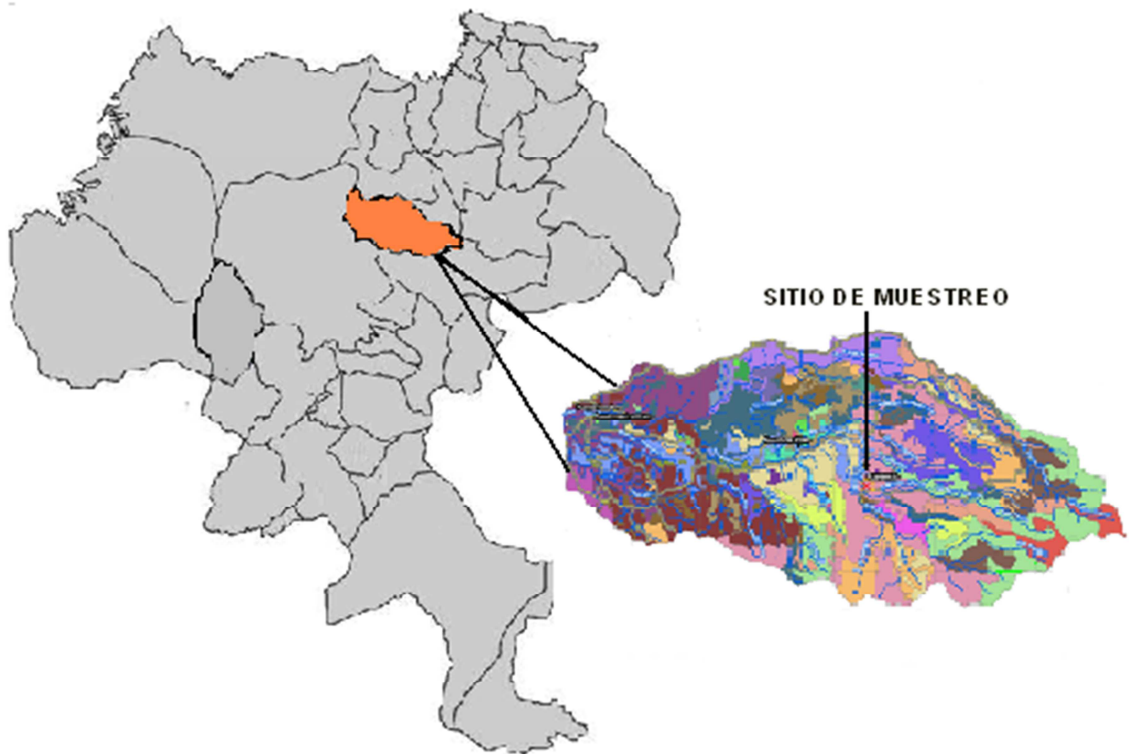
Incrementar el pH del suelo hasta valores de 5.5 es una medida adecuada para aumentar la disponibilidad de fósforo en suelos ácidos, aunque no logra eliminar completamente los factores de fijación. Dado que se altera el pH del suelo, se modifica las reacciones químicas, bioquímicas y los procesos microbiológicos. Este tratamiento implica cambios en la solubilidad de muchos compuestos químicos y afecta el desarrollo de las raíces de las plantas incrementando la biomasa al igual que la dinámica y diversidad microbial del suelo, lo que genera cambios en las actividades enzimáticas, alterando la calidad del suelo, característica que puede ser analizada por medio de bioindicadores ^[53].

4. METODOLOGÍA

4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

Las muestras de suelo a analizar fueron tomadas de la finca Santa Rosa de la Vereda “La Aurelia”, Municipio de Cajibío en el Departamento del Cauca. Este municipio se encuentra a 1740 msnm y está dedicado al cultivo de café. En la figura 10 se observa la ubicación del sitio de muestreo.

Figura 10. Ubicación geográfica del sitio de muestreo



4.2 TOMA DE MUESTRAS

La toma de las muestras de suelo se realizó teniendo en cuenta la metodología estandarizada en el laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca ^[26]. Con el propósito de obtener un valor analítico representativo del volumen del suelo, el terreno fue dividido en unidades de muestreo y se seleccionó una de ellas alrededor de los cultivos. Las respectivas muestras fueron tomadas en zig – zag, del área delimitada. Se hizo sondeos en la capa arable alrededor de 10-20 cm de profundidad, por ser la zona radicular. Se tomó entre 10 y 15 submuestras

formándose con estas una muestra compuesta de 1 Kg. Las muestras compuestas fueron llevadas al laboratorio, se secaron al aire durante 24 horas, se molieron y se pasaron por un tamiz de 2 mm. Otra porción de 8 kg de muestra se tomó en las mismas condiciones para el estudio de la actividad de la Fosfatasa alcalina, se colocaron en bolsas de polietileno color negro de 200 g y se almacenaron a 4°C hasta el análisis respectivo.

4.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DEL SUELO

Teniendo en cuenta la metodología establecida en el Laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca ^[24], se procedió a identificar el suelo, realizando los siguientes análisis físicos y químicos:

4.3.1 ANÁLISIS FÍSICOS ^[24]

- **Humedad:** El método utilizado para esta medición es el gravimétrico, que es la relación entre la masa de agua y la masa de los sólidos del suelo. La humedad del suelo se calculó por diferencia de peso entre una misma muestra húmeda y después de secarse a 105°C en la estufa hasta obtener un peso constante.
- **Textura:** 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).
- **Densidad por el método del cilindro:** Se realizó adicionando una cantidad de suelo fresco en un cilindro metálico previamente seco 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.

4.3.2 ANÁLISIS QUÍMICOS

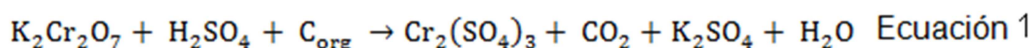
Los análisis químicos se determinaron de la siguiente forma:

➤ pH

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

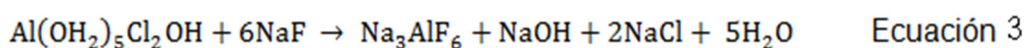
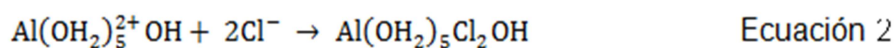
➤ **Materia orgánica**

Se realizó mediante el método de Walckley – Black, el cual consiste en oxidar el carbono orgánico presente en el suelo con un oxidante ($K_2Cr_2O_7$ 1N) en medio ácido, (ácido sulfúrico concentrado).



➤ **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 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:



El NaOH producido se tituló con HCl y dado que la cantidad de NaOH depende de la cantidad de $AlCl_3$, el número de miliequivalentes de ácido clorhídrico 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^+ .

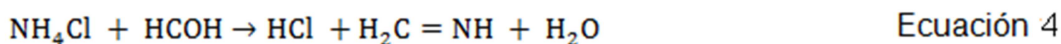
➤ **Determinación de la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)**

Es una medida de la capacidad que poseen los coloides del suelo para absorber bases como Ca, Mg, Na, K y aquellos otros cationes que se encuentran en baja proporción como Cu, Zn, Mn, Co, etc. La medida de la C.I.C es la expresión de la máxima cantidad de cationes que pueden adsorber 100g de suelo y se expresa en miliequivalentes por 100 gramos del mismo (meg/100gr a 25 C). Este valor es importante porque da la idea de la disponibilidad que tienen las plantas para absorber sus nutrientes.

Consiste en desplazar todos los cationes del suelo y reemplazarlos por iones NH_4^+ ; el suelo seco, tamizado y muy fino, se satura con NH_4^+ . Posteriormente, hay un desplazamiento de los iones NH_4^+ adsorbidos con NaCl, al 10%

obteniéndose NH_4Cl en solución, que se trata con formaldehído neutro. El HCl obtenido se titula con NaOH 0,1 N.

La siguiente reacción muestra el proceso:



➤ **Determinación de las bases Intercambiables**

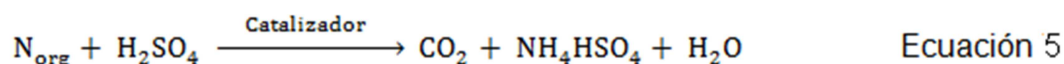
Correspondientes al calcio, magnesio, sodio y potasio, en principio porque son las que existen en mayor proporción y son necesarias.

Se determinan con el primer extracto del tratamiento con acetato de amonio (AcONH_4) 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.

➤ **Determinación de nitrógeno por el método de Kjeldahl**

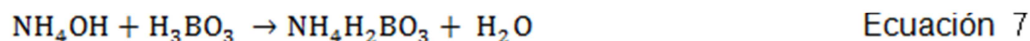
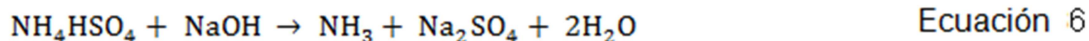
El método empleado es el utilizado universalmente en la determinación cuantitativa de N procedente de diversos materiales; consta de tres etapas:

a) Oxidación de la muestra: Las muestras de suelo son tratadas separadamente con H_2SO_4 y una mezcla catalizadora de CuSO_4 , selenio y K_2SO_4 para oxidar la materia orgánica y convertir el nitrógeno en sulfato ácido de amonio según la siguiente reacción:



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

b) Descomposición del sulfato ácido 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:

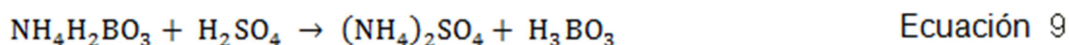


El equipo de destilación empleado fue BÜCHI K-314[®]

c) Titulación del borato de amonio: El borato de amonio formado en el paso anterior se valora con HCl o H₂SO₄ 0.1N utilizando como indicadores una mezcla de rojo de metilo y verde de bromocresol. La reacción es la siguiente:

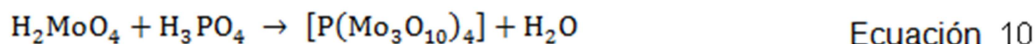


Ó



➤ **Determinación de fósforo disponible**

El método utilizado para esta determinación en suelos ácidos fue el Bray II, 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[®].

➤ **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 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ con una concentración de 0.04N. Se preparó varias suspensiones de suelos a los cuales se les adicionó cantidades crecientes de la solución de hidróxido de calcio. Se dejó reposar durante 1 hora y se midió el pH usando un potenciómetro, de acuerdo a la metodología^[36].

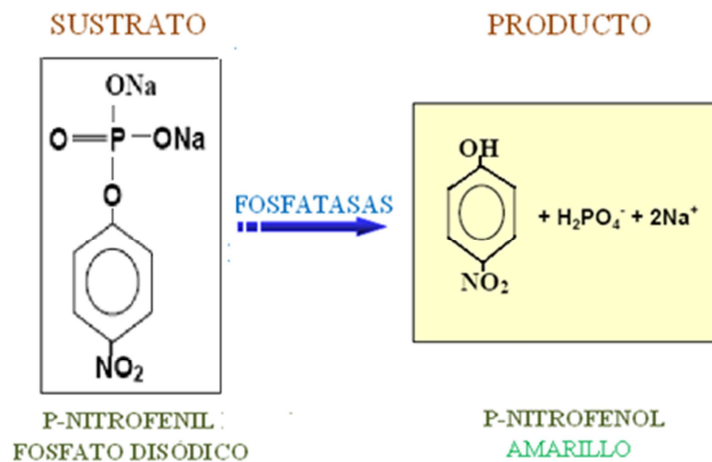
Se elaboró una grafica de pH vs material encalante en toneladas de carbonato de calcio por hectárea de suelo, con el propósito de determinar la cantidad de material encalante necesaria para obtener un pH óptimo para un determinado cultivo^[36].

4.4 IMPLEMENTACION DEL MÉTODO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA 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 alcalina empleando como sustrato p-nitrofenilfosfato 0.05M a pH 11.0, el cual por acción de la enzima se convierte en p-nitrofenol (p-NF) y ácido fosfórico, en un tiempo de incubación de 30 minutos y a 37°C ^{[1], [54], [55]}.

La reacción de las enzimas fosfatasas con el p-nitrofenol se observa en la figura 11.

Figura 11. Reacción enzimática para la determinación de la actividad de la fosfatasa

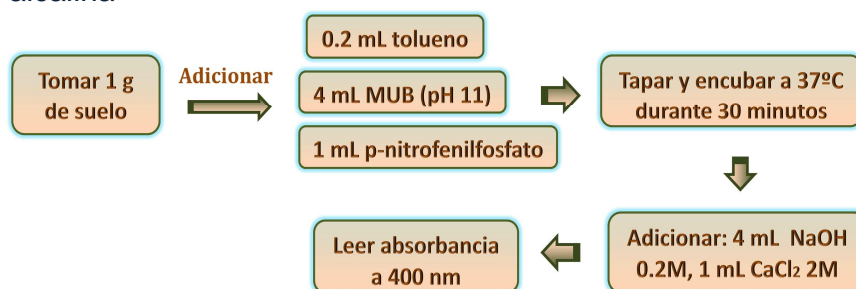


Se realizaron algunas modificaciones en el método de extracción como:

1. La 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].
2. Incrementar la concentración de cloruro de calcio a 2M de modo que haya calcio en cantidad suficiente para complejar toda la materia orgánica extraída ^[56].
3. También es necesario disminuir la concentración del hidróxido de sodio a 0.2 M ya que en caso contrario se formarían precipitados de hidróxido de calcio que afectarían la determinación de la actividad ^[56].

El diagrama del proceso de extracción se observa en la figura 12.

Figura 12. Diagrama del proceso de extracción para la determinación de la Fosfatasa alcalina



Se realizó una curva de calibración con p-nitrofenol en diferentes concentraciones, ajustándose a la Ley de Beer. Para las mediciones se utilizó un espectrofotómetro Génesys 20[®]. Se determinó la linealidad y 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 FÓSFORO DISPONIBLE, ORGÁNICO Y FÓSFORO TOTAL

Se realizó un seguimiento mensual del contenido de fósforo en sus diferentes formas con el fin de observar la correlación que existe entre el enclado y la actividad de la Fosfatasa alcalina del suelo bajo estudio.

4.5.1. EVALUACIÓN DEL P ORGÁNICO

Para la determinación del fósforo se tomó una muestra de suelo y se realizó el procedimiento establecido en la figura 13.

Para la determinación del fósforo por colorimetría, luego de agitar, se tomó una alícuota de 2 mL a la cual 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 pasado 15 minutos se determinó por colorimetría utilizando un equipo Espectrofotómetro visible SPECTRONIC GENESYS 20[®] [44]. Esta adición de solución coloreadora se realizó de la misma forma para la cuantificación del fósforo disponible y el fósforo total. Se cuantificó usando curva de calibración.

Figura 13. Proceso para la determinación de fósforo orgánico

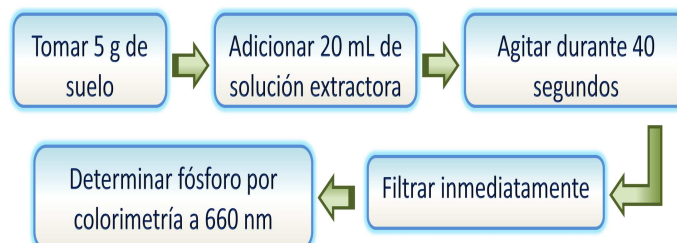


Este mismo procedimiento se aplicó a una muestra sin calcinar y por diferencia entre las dos extracciones se determinó el P orgánico [57].

4.5.2. EVALUACIÓN DEL P DISPONIBLE

Se determinó por el método de Bray II, el cual se muestra en la figura 14. Luego de filtrar se adicionó la solución coloreadora del mismo modo que se realizó para el fósforo orgánico.

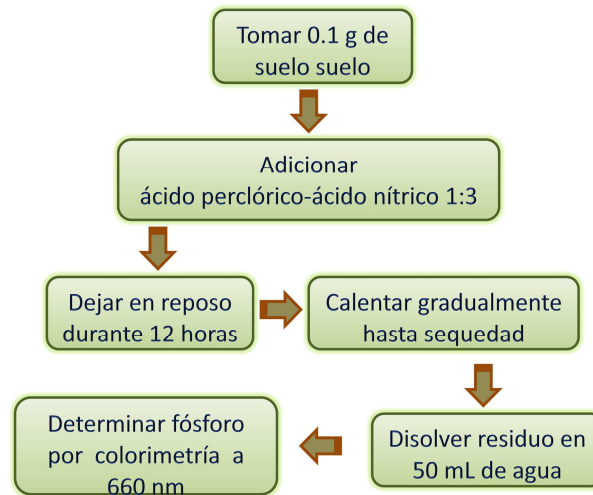
Figura 14. Proceso para la determinación de fósforo disponible



4.5.3. EVALUACIÓN DEL P TOTAL

Se determinó por digestión del suelo con una mezcla de ácido perclórico/ ácido nítrico. El diagrama del proceso se muestra en la figura 15.

Figura 15. Diagrama del proceso para la determinación de fósforo total



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

Se utilizó un diseño experimental factorial de bloques con el fin de evaluar el efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina y sobre la calidad del suelo. Se seleccionó como indicador bioquímico la actividad de la Fosfatasa alcalina, dado que el suelo elegido es fuertemente ácido y presenta serias deficiencias de fósforo, por lo cual los agricultores aplican altas y reiteradas dosis de diferentes cales, afectando de esta manera su calidad a largo tiempo.

Una manera de evaluar ese efecto es de acuerdo al método establecido por Tabatabai a través de indicadores bioquímicos como las enzimas mencionadas con anterioridad ^[1]. Cuando se altera la actividad de la Fosfatasa alcalina en estos suelos, se detectan cambios en los contenidos de P como se aprecia en este análisis.

Se evaluaron los siguientes parámetros: actividad de la Fosfatasa alcalina, fósforo en sus diferentes formas y pH del suelo, realizando un seguimiento en tres tiempos mensualmente para observar el efecto del encalamiento con diferentes dosis en cada uno de ellos. 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 0.05 g /100g suelo y 0.1 g/100g suelo, correspondientes a los tratamiento T₂ y T₃ respectivamente; Cal dolomita en dosis de 0.1g/100 g suelo y 0.2 g/ 100g suelo correspondiente a los tratamientos T₄ y T₅ respectivamente.

Las dosis fueron seleccionadas con base a la curva de encalamiento representada en la figura 18 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.

El siguiente diagrama muestra el diseño experimental de los diferentes tratamientos a través del tiempo.

Figura 16. Diagrama de diseño experimental para la evaluación del efecto de diferentes dosis de cal sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina.



T1: suelo sin cal; **T2:** suelo con 1 dosis de Cal Agrícola; **T3:** suelo con 2 dosis de Cal Agrícola. **T4:** suelo con 1 dosis de Cal Dolomita; **T5:** suelo con 2 dosis de Cal Dolomita. **R₁:** Réplica 1; **R₂:** Réplica 2; **R₃:** Réplica

5. ANALISIS DE RESULTADOS

5.1 ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL SUELO

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de los análisis físicos y químicos realizados a la muestra de suelo. Para la interpretación de los resultados se utilizó como patrón de referencia, los datos reportados por Silva^[58], (anexo 1).

Tabla 2. Análisis Físicos y Químicos

Propiedades Físicas									
Suelo	Humedad Higroscópica (%4)			Densidad aparente (g/cm ³)	Granulometría (%)			Textura	
Características de Andisol	14.09			0.95	Arena 73.51	Arcilla 8.01	Limo 18.47	Franco arenoso	
Propiedades Químicas									
pH	C (org.) (%)	MO (%)	N (%)	C/N	P (ppm)	Acidez intercambiable meq/100g suelo	Al ³⁺ Intercambiable meq/100g suelo	H ⁺ Intercambiable meq/100g suelo	CIC meq/100g suelo
4.87	8.51	14.67	0,74	11.5	7.01	0,992	0.668	0,324	35,37
Bases de cambio (meq/100g suelo)		Capacidad de Intercambio Efectiva (meq/100g)			Microelementos (mg/kg)				
Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca/Mg	Fe ²⁺	Cu ²⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺	
0.22	0.085	0,055	0,218	2.63	1.57	2.652	0.612	2.613	0.311
Saturación de Bases de Cambio (%)							Saturación Media de Al intercambiable (%)		
Ca ²⁺		Mg ²⁺		Na ⁺		K ⁺			
14.26		5.41		3.5		13.88		42.55	

Los suelos del municipio de Cajibío se han desarrollado a partir de cenizas volcánicas, por lo que son catalogados como de tipo Andisol, siendo una de sus características físicas principales el color negro. Este color oscuro se asocia a contenidos elevados de la arcilla alófana, exclusiva de este tipo de suelo. El mineral de alofán es un componente de la fracción coloidal de los suelos derivados de cenizas volcánicas recientes, y se ha observado y comprobado que tiene influencia sobre las propiedades físicas de éstos, como por ejemplo su acidez^[59].

Esta arcilla cuenta con numerosos poros traspasables por moléculas de agua, lo que hace que estos suelos tengan cierto nivel de humedad, ya que las moléculas

de agua quedan retenidas influyendo en parte, a que el suelo presente un valor de humedad higroscópica de 14.09%. No obstante, este porcentaje de humedad aún es inferior al rango óptimo, (15% - 25%).

Teniendo en cuenta el análisis granulométrico, en la tabla 2, se observa que el suelo presenta un alto contenido de arena y bajo de arcilla, lo que clasifica el suelo como franco arenoso. Un contenido bajo en arcillas (8.01%) indica que la retención de humedad se debe principalmente a la materia orgánica. Se aprecia un alto % de arenas (>65%) y bajo contenido de limos (<28%) indicando que hay pérdida por erosión y que no podría haber una distribución uniforme entre la retención de agua y oxígeno y la difusión de gases. Además, la elevada cantidad de arena indica que este suelo tiene alta evolución, debido a que a mayor cantidad de ella mayor desarrollo en un Andisol.

Así mismo, las partículas tienen un tamaño inferior a 2 μm , por tanto, el suelo analizado está formado por agregados muy finos, conllevando a que presente una estructura muy porosa. Este tamaño de partículas y el bajo valor de la densidad aparente (0,95 g/mL), indican que el suelo tiene estabilidad, baja compactación, buena aireación, buena capacidad de retención de agua y alto contenido de MO, lo cual facilita el arado de estos suelos.

Este alto contenido de materia orgánica (14.67%) detectado, es muy favorable, ya que es fundamental en procesos de fermentación y crecimiento de plantas y microorganismos. Además, influye en la estructura y estabilidad que presenta este suelo por lo que puede ser resistente a la erosión. La MO también interviene en las propiedades de intercambio de los iones y en este caso es la principal responsable de la retención de humedad del suelo. Se considera como fuente de energía y de nutrientes para las plantas debido a su composición rica en restos de origen vegetal y animal de diferente naturaleza y a sus diferentes grados de transformación.

Respecto a los niveles de P, (tabla 2) se puede decir que están por debajo del nivel normal, presentando alta deficiencia en este elemento, lo que afecta el normal desarrollo tanto de los microorganismos como el de las plantas. Este resultado era de esperarse debido a que una de las principales características de los Andisoles es la baja disponibilidad de P por la retención de éste en las arcillas y alófanos.

El porcentaje de nitrógeno total del suelo, como se observa en la tabla 2 presenta un alto valor de 0,746%, aunque no necesariamente implica que esté disponible para las plantas, debido a que el nitrógeno se encuentra en dos formas: orgánica e inorgánica. Las formas orgánicas del nitrógeno del suelo se encuentran en forma de aminoácidos, proteínas, aminoazúcares y otras formas complejas que se producen en la reacción del amonio con la lignina y de la polimerización de quinonas y compuestos nitrogenados, así como de la condensación de azúcares y

aminas. Esta forma orgánica representa casi la totalidad del nitrógeno en el suelo y 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 como la temperatura, el pH y la humedad.

El valor de la relación C/N (11,19) para este suelo indica un proceso normal de mineralización. El nitrógeno es necesario para la descomposición de la materia orgánica por los microorganismos heterótrofos del suelo y si el material orgánico que se descompone tiene poco nitrógeno en relación al carbono presente, los microorganismos utilizan el amonio o nitratos presentes en el terreno. Este nitrógeno permite el rápido crecimiento de los microorganismos que proporcionan material con carbono al suelo. Los microorganismos trabajan adecuadamente en la degradación de la materia orgánica y aunque el nitrógeno puede no estar disponible totalmente, genera una fuente de energía baja para ellos y puede influir negativamente en el proceso de humificación de la MO ocasionando así fuerte acidez al suelo con consecuencias negativas de fertilidad.

Referente a los nutrientes del suelo, denominados bases de cambio y teniendo en cuenta los resultados de la tabla 2, se observan bajos valores en estos elementos que son indispensables para un óptimo desarrollo de las plantas. Este fenómeno puede ocurrir debido al lavado de Ca, Mg, Na 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. Además, las bajas saturaciones de estas bases (a excepción del K) implican que el suelo analizado tiene baja fertilidad, debido a que se reduce la facilidad con que los cationes son absorbidos por las plantas.

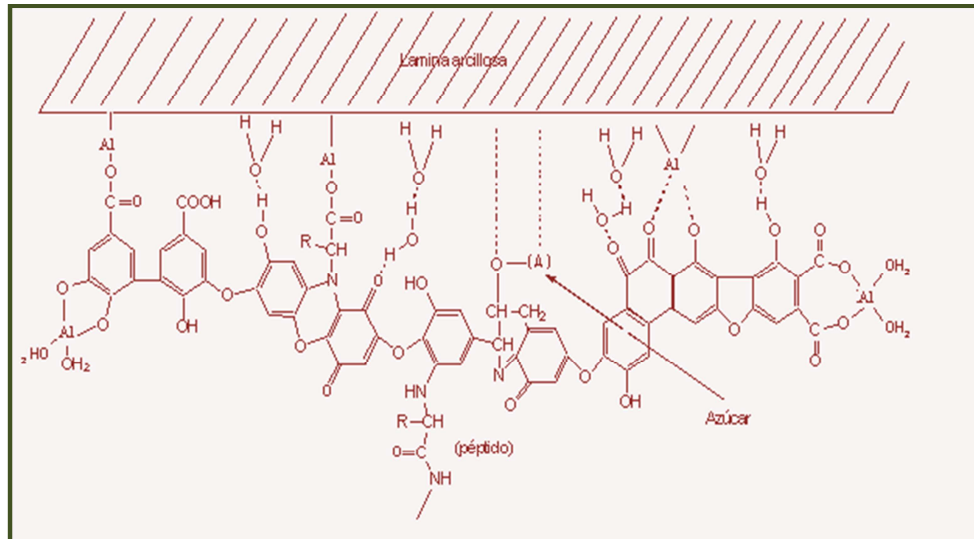
La relación Ca/Mg de 2.63 es apropiada. Estas bases son tan necesarias para la planta que se absorben con rapidez, provocando disminución de estos nutrientes en el suelo lo cual puede deberse a la continua extracción por parte de los cultivos sin su debida reposición.

El fuerte lavado de las bases de cambio así como 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 Al intercambiable y así volverse tóxico tanto para el suelo como para las plantas. Se aprecia bajo valor de Al intercambiable, con una saturación media de 42.55%, demostrando que contribuye a la fuerte acidez de este suelo.

No obstante, 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 17.

La capacidad de intercambio catiónico es de 35,37 meq/100 g de suelo, valor alto atribuible a las clases, cantidades y combinaciones de los minerales arcillosos y las cantidades de materia orgánica y su estado de descomposición.

Figura 17. Reacción del aluminio con los grupos carboxílicos y fenólicos del humus



Otra de las características sobresalientes de los Andisoles es su bajo pH, para este suelo se obtuvo un valor de 4.87. Teniendo en cuenta los criterios para evaluar los problemas de acidez de acuerdo a Silvia ^[58] y corroborado por Molina ^[60], este suelo se clasifica como muy fuertemente ácido. Esta acidez reduce el crecimiento de las plantas y ocasiona disminución de la disponibilidad de algunos nutrientes, beneficiándose la adsorción de fósforo, boro, azufre y molibdeno en la fase coloidal ya que pueden intercambiarse aniónicamente, puesto que se favorece la capacidad de intercambio aniónico.

Esta alta deficiencia en los nutrientes también puede ser explicada si se tiene en cuenta que aún cuando los Andisoles son suelos que tienen la gran ventaja de renovarse con suficiente frecuencia, es decir, son suelos que se mantienen "jóvenes" y conservan buenos niveles de nutrientes, por lo general, están situados en zonas en donde la pluviosidad es media o alta, por lo que mucha agua pasa por el pedón, lo cual unido a su buen drenaje, los hace susceptibles a empobrecerse gradualmente, reduciendo así los niveles de bases de cambio y fracciones de P.

Los elementos menores Fe, Cu, Mn y Zn se encuentran en cantidades bajas en este suelo. Dada la fuerte acidez pueden ser lavados produciendo contaminación

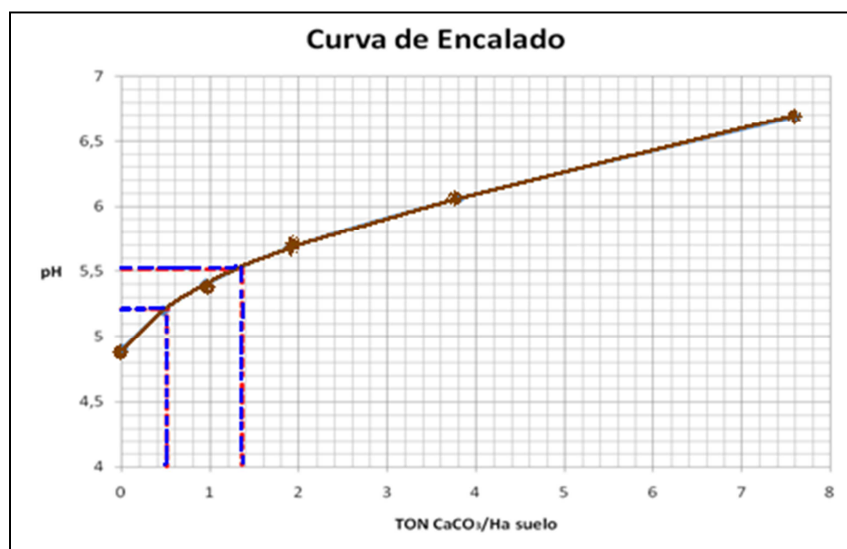
de aguas o pueden sufrir procesos de fuerte quelatación por parte de la MO evitando así su disponibilidad para las plantas.

5.2 REQUERIMIENTO DE CAL

Para la investigación se seleccionó dos tipos de cal de uso comercial en el departamento del Cauca: 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 seleccionó las dosis necesarias de cal para la cantidad de suelo utilizada durante el análisis. La curva de requerimiento de cal se muestra en la figura 18.

Figura 18. Curva de requerimiento de cal en el suelo



Interpolando el valor del pH seleccionado se obtuvo el requerimiento de cal en toneladas por hectárea de suelo y se calculó el requerimiento de cada una de las calces en cien gramos de suelo. Los resultados se observan en la siguiente tabla.

Tabla 3. Dosis del requerimiento de cal

DOSIS	CAL AGRICOLA	CAL DOLOMITA
Dosis 1 (pH 5.2)	0.05 g / 100 g suelo	0.1g / 100 g suelo
Dosis 2 (pH 5.5)	0.1 g / 100 g suelo	0.2g / 100 g suelo

Luego de determinar las dosis de cal se incubó el suelo y se realizó un seguimiento mensual de la actividad de la Fosfatasa alcalina, el pH, el P orgánico, P disponible y P total.

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

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

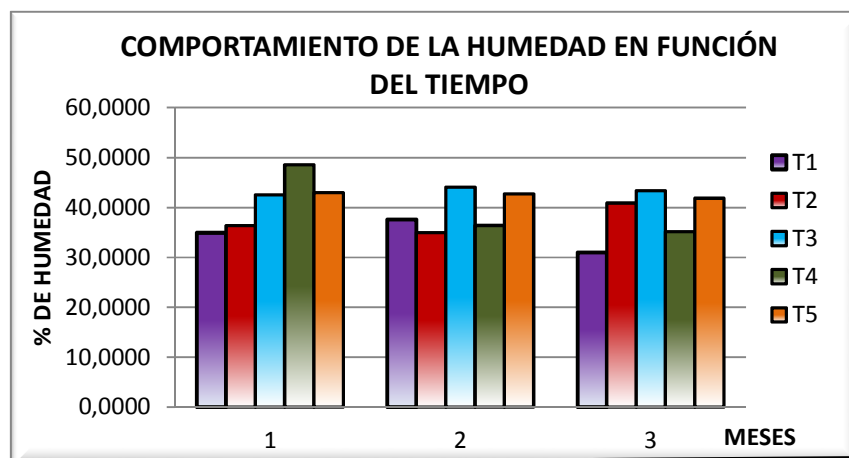
5.3.1 EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DE LA HUMEDAD EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

En la tabla 4 y figura 19 se muestran los resultados del efecto del encalamiento sobre la humedad.

Tabla 4 Comportamiento de la humedad en función del tiempo

TRATAMIENTO	Humedad TIEMPO 1	Humedad TIEMPO 2	Humedad TIEMPO 3
T1:suelo testigo	34.907	37.541	30.942
T2:Dosis 1 cal agrícola	36.328	34.937	40.869
T3: Dosis 2 cal agrícola	42.526	44.065	43.326
T4: Dosis 1 cal dolomita	48.555	36.378	35.123
T5: Dosis 2 cal dolomita	42.9341	42.691	41.833

Figura 19. Comportamiento de la humedad en función del tiempo



Como se observa en la figura 19 no existe una tendencia generalizada en el comportamiento de la humedad en función del tiempo. El análisis estadístico para cada tiempo sugiere que en el tiempo 1 (anexo 2, tabla 1) los datos se ajustan a una distribución normal, ($p > 0.05$), por lo que se aplicó pruebas paramétricas (ANOVA). En esta prueba, (anexo 2, tabla 2) se demuestra que no existe diferencia significativa entre los valores de la humedad de los diferentes tratamientos, indicando que las muestras permanecen homogéneamente humedecidas.

Para el tiempo 2, la prueba ANOVA (anexo 2, tabla 4), muestra que hay diferencias significativas entre los valores de la humedad para los diferentes tratamientos. La prueba de Duncan, (tabla 5) manifiesta que no hay diferencia significativa entre los tratamientos con las mayores dosis de cal, correspondientes a T3 y T5, siendo significativamente superiores a los demás tratamientos.

Tabla 5. Prueba de Duncan para humedad en tiempo 2

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1	2
2,00	3	34,9407	
4,00	3	36,3783	
1,00	3	37,5413	
5,00	3		42,6913
3,00	3		44,0653
Sig.		0,287	0,548

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000

La prueba de Duncan (tabla 6) para el tiempo 3 muestra que existe diferencia significativa entre la humedad del tratamiento T1 y la de los tratamientos T2, T3 y T5.

Tabla 6. Prueba de Duncan para humedad en tiempo 3

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1	2
1,00	3	30,9423	
4,00	3	35,1225	35,1225
2,00	3		40,8693
5,00	3		41,8325
3,00	3		43,3260
Sig.		0,258	0,053

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Estos resultados muestran que durante los tiempos 2 y 3 no hubo homogeneidad en el humedecimiento de algunas muestras.

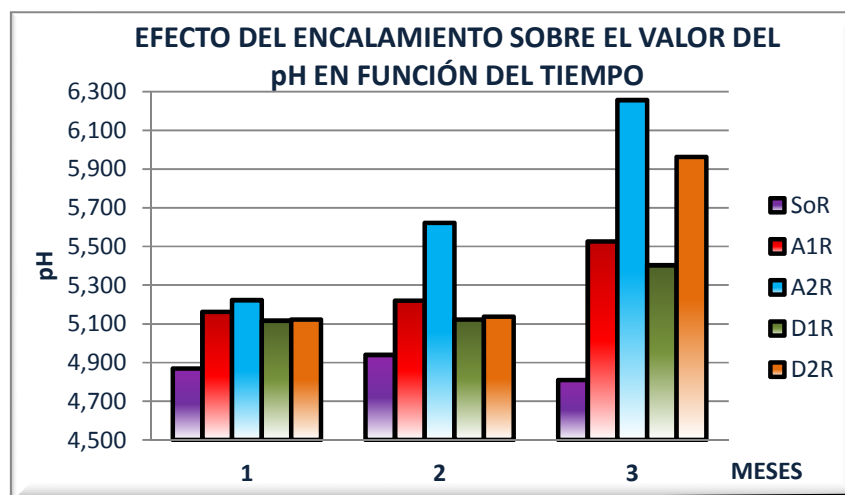
5.3.2. EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DEL pH EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

Los resultados se relacionan en la tabla 7 y figura 20.

Tabla 7. Efecto del encalamiento sobre el pH en función del tiempo

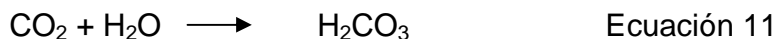
TRATAMIENTO	pH TIEMPO 1	pH TIEMPO 2	pH TIEMPO 3
T1: Suelo Testigo	4.87	4.94	4.81
T2: Dosis 1 Cal agrícola	5.16	5.22	5.53
T3: Dosis 2 Cal agrícola	5.22	5.62	6.26
T4: Dosis 1 Cal dolomita	5.11	5.12	5.40
T5: Dosis 2 Cal dolomita	5.12	5.14	5.96

Figura 20. Efecto del encalamiento sobre el pH en función del tiempo

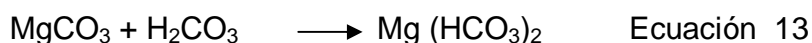


De acuerdo a la tabla 7 y figura 20, se puede deducir que efectivamente las cales en sus diferentes dosis incrementan el valor de pH desde el día de la incubación, de acuerdo a las siguientes reacciones:

Los carbonatos de Ca y Mg son insolubles pero al llegar al suelo se produce una primera reacción:



Luego, el ácido carbónico producido reacciona con el carbonato de calcio y/o magnesio, dando lugar al bicarbonato ácido de calcio y/o de magnesio, de acuerdo a la cal adicionada, como se muestra en las siguientes reacciones:



Tanto el bicarbonato de calcio como el de magnesio son solubles, incrementando de esta manera el valor del pH.

Durante este primer análisis es más pronunciado el efecto de la cal agrícola, aún cuando teóricamente su poder de neutralización (70%) es inferior al de la Cal Dolomita (95.5%). Este comportamiento indicaría que la composición de la Dolomita no es la indicada por el proveedor y por tanto su poder de neutralización es inferior al esperado. Además se deduce que el valor de pH no llega a 5.5 en el día de la incubación, explicable por la lenta solubilización de los carbonatos de Ca y Mg como se explicó anteriormente.

Estos resultados concuerdan con los encontrados por Serpa y González quienes reportaron incrementos en el pH de un Andisol y una disminución en la acidez conforme se aumentaron las cantidades de cal aplicadas ^[61]. De igual forma, contrastan con los obtenidos por Pezzini et. Al, quienes establecen que con la primera dosis de cal se logró un aumento de 0,7 puntos en el pH de un suelo franco arenoso, sin embargo, este valor no se modificó con las siguientes dosis, no alcanzando valores de neutralidad, lo cual conllevó a deducir que el comportamiento anormal de ese suelo indica que se va a requerir mayor esfuerzo para recuperarlo, debiéndose realizar estudios más específicos ^[62].

De los datos obtenidos se observa que el pH luego del encalamiento, para todos los tratamientos incrementó entre 0.37 y 1.04 unidades a través del tiempo. De acuerdo a Urbano “no se puede subir más de una unidad cada vez que se haga una corrección de pH para impedir el bloqueo de microelementos que un encalado fuerte pueda producir”, ya que excesos de cal pueden acelerar excesivamente la transformación de Materia Orgánica del suelo, modificar rápidamente la vida microbiana e insolubilizar determinados elementos, transformando así las características naturales del suelo y por ende, verse afectado directamente la asimilación de nutrientes tanto existentes como aplicados, logrando finalmente una disminución en los rendimientos de cultivos, por tanto se infiere que las cantidades adicionadas en este análisis están dentro de los límites, impidiendo así un mayor deterioro y mejorando la calidad de este suelo ^{[63], [64]}.

El análisis estadístico aplicado para el pH durante el tiempo 1, inicia con la prueba de Kruskal Wallis, ya que los valores de esta variable no se ajustan a la normalidad (anexo 2, tabla 1). La tabla 8 muestra que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de pH de los diferentes tratamientos.

Tabla 8. Prueba de Kruskal Wallis para pH en tiempo 1

Estadísticos de contraste(a, b)

	PH
Chi-cuadrado	13,343
gl	4
Sig. asintót.	0,010

a Prueba de Kruskal-Wallis

b Variable de agrupación: tratamiento

La prueba de Tukey (tabla 9), muestra cuatro subconjuntos en donde el tratamiento 1 presenta un valor de pH significativamente inferior al de los demás tratamientos, confirmando el efecto del encalamiento. El mayor efecto de neutralización lo producen los tratamiento 3 y 2 respectivamente, los cuales presentan valores de pH significativamente superiores a los demás tratamientos, mostrando el mayor poder de neutralización de la Cal Agrícola y por tanto un efecto más rápido. No existe diferencia significativa entre los valores de pH de los tratamientos 4 y 5 correspondientes a los tratamientos con Cal Dolomita, manifestando su tardía reacción.

Tabla 9. Prueba de Tukey para el pH en tiempo 1

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
1,00	3	4,8667			
4,00	3		5,1167		
5,00	3		5,1233		
2,00	3			5,1633	
3,00	3				5,2233
Sig.		1,000	0,794	1,000	1,000

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

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000

De igual forma en el tiempo 2, la prueba de Kruskal Wallis (tabla 10) muestra una diferencia significativa entre los valores de pH de los diferentes tratamientos.

Tabla 10. Prueba Kruskal-Wallis para pH en tiempo 2

Estadísticos de contraste(a,b)

	PH
Chi-cuadrado	13,401
gl	4
Sig. asintót.	0,009

a Prueba de Kruskal-Wallis

b Variable de agrupación: tratamiento

La prueba de Tukey (tabla 11) muestra el mismo comportamiento que en el tiempo 1, demostrando una vez más el mayor efecto de neutralización por parte de la Cal Agrícola. En este caso el valor de pH es superior al del tiempo 1, indicando que el efecto de ambas cales es paulatino debido no solamente a la baja solubilidad sino también al tamaño de sus partículas.

Tabla 11. Prueba de Tukey para pH en tiempo 2

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
1,00	3	4,9400			
4,00	3		5,1233		
5,00	3		5,1367		
2,00	3			5,2200	
3,00	3				5,6233
Sig.		1,000	0,411	1,000	1,000

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

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Los análisis de los valores del pH, para el tiempo 3, a diferencia de los dos tiempos anteriores, se ajustan a la normalidad (anexo 2, tabla 5), por lo cual se aplicó pruebas paramétricas. La prueba de ANOVA (anexo 2, tabla 6) muestra que existe diferencia significativa entre los valores de los tratamientos para este tiempo.

La prueba de Duncan (tabla 12) indica igualmente el mayor efecto de la Cal Agrícola (dosis 2) siendo significativamente superior al de los demás tratamientos.

Tabla 12. Prueba de Duncan para pH en tiempo 3.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1,00	3	4,8077				
4,00	3		5,4033			
2,00	3			5,5267		
5,00	3				5,9633	
3,00	3					6,2567
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Para este tiempo el tratamiento 5 con Cal Dolomita (dosis 2) es significativamente inferior al tratamiento T3 (Cal Agrícola) pero superior al de los otros tratamientos, mostrando que fue necesario un tiempo de 2 meses para alcanzar un máximo nivel de solubilización durante el tiempo de estudio y por lo tanto de neutralización de la acidez del suelo. Como era de esperarse el menor valor de pH lo muestra el tratamiento T1, lo que continúa manifestando el efecto que ejerce la adición de cal sobre el pH del suelo, demostrando así, el poder de neutralización de ambas cales.

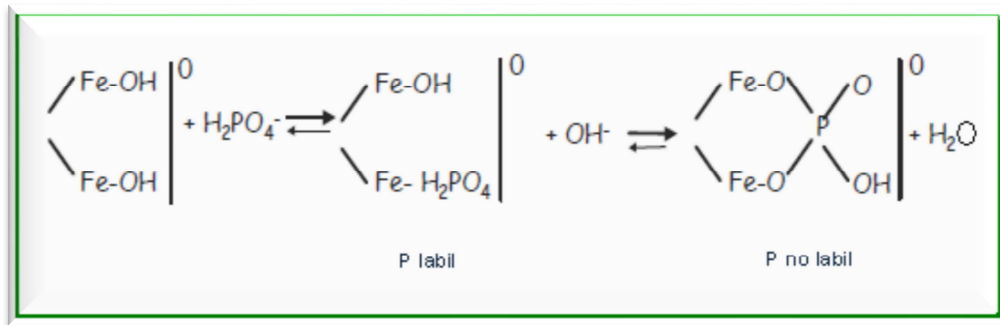
A pesar de que la Cal Dolomita actúa de una forma relativamente lenta en el suelo, para Fuentes, “la Cal Dolomita actúa como un excelente corrector y mejorador de suelos ácidos y eleva el pH”, de ahí que se recomienda realizar el encalado con antelación como una operación individualizada, teniendo en cuenta que no debe aportarse de una vez una cantidad de enmienda que suponga una modificación de pH superior a una unidad^[65].

5.3.3 EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DEL P DISPONIBLE EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

Los resultados se representan en la tabla 13 y figura 21.

Tabla 13. Efecto del encalamiento sobre el fósforo disponible

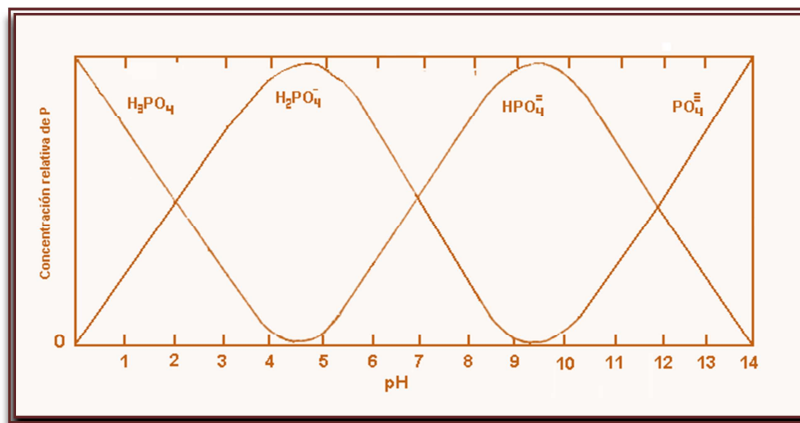
TRATAMIENTO	P disponible TIEMPO 1	P disponible TIEMPO 2	P disponible TIEMPO 3
T1:suelo testigo	6.087	7.571	8.503
T2:Dosis 1 cal agrícola	7.431	8.834	11.640
T3: Dosis 2 cal agrícola	8.368	9.449	13.873
T4: Dosis 1 cal dolomita	7.994	10.190	10.880



Fuente: Tisdale et al. [66].

Estas reacciones posteriormente generan fosfatos diácidos de Ca y de Mg al unirse con la cal adicionada, teniendo en cuenta el siguiente diagrama de solubilización de fosfatos

Figura 23. Solubilización de fosfatos



Fuente: Tsai S.M. y Rossetto R. [67].

El encalamiento además de afectar el pH, produce también un incremento en la cantidad y acción de microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica y de las transformaciones de fósforo.

El análisis estadístico durante el tiempo 1 muestra normalidad en los datos (anexo 2, tabla 1). La prueba de ANOVA (anexo 2, tabla 2), presenta diferencia significativa entre los valores del P disponible de los diferentes tratamientos. La prueba de Duncan (tabla 14) establece que a medida que incrementa la cantidad de cal agregada aumenta la cantidad de P solubilizado y que el tratamiento 5 (D7olomita dosis 2) produce el mayor nivel de solubilización de P, aún cuando su pH (tabla 7) en este tiempo, es inferior al de los tratamientos con Cal Agrícola, revelando que el fosfato de Mg producido es más soluble y por lo tanto más disponible para la planta que el fosfato de Ca. También se observa que el

tratamiento 3, correspondiente a la Cal Agrícola dosis 2, supera el P disponible de la Dolomita dosis 1(T4), lo que revela que el incremento en el P disponible puede atribuirse no solamente a un proceso químico de solubilización sino a un proceso bioquímico de mineralización de P orgánico por el incremento en la actividad de la Fosfatasa alcalina como se verá posteriormente.

Resultados similares fueron obtenidos por Cheng et al., quienes a partir de sus investigaciones concluyeron que las Fosfatasas alcalinas, están involucradas en la liberación de fosfatos a partir de fosfatos orgánicos ^[68]. Este hecho también concuerda con lo encontrado por Garg et al., quienes concluyen que hay una relación positiva entre la disponibilidad de P del suelo y la actividad de la Fosfatasa alcalina en suelos encalados ^[69].

Tabla 14. Prueba de Duncan para fósforo disponible en tiempo 1

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1,00	3	6,0870				
2,00	3		7,4607			
4,00	3			7,9943		
3,00	3				8,3687	
5,00	3					8,6930
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Para el tiempo 2, la prueba de ANOVA (anexo 2, tabla 4) muestra diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de P disponible para todos los tratamientos. La prueba de Duncan (tabla 15), expone un incremento en la disponibilidad de P para los tratamientos encalados, siendo significativamente superior el efecto del tratamiento con Dolomita en las dos dosis (T5 y T4). Si se tiene en cuenta que los valores de pH para éstos tratamientos durante el mismo tiempo fueron inferiores a los valores obtenidos con Cal Agrícola, se puede confirmar que dicho incremento del P disponible se atribuye primordialmente a una solubilización bioquímica, porque se incrementa en esta forma la actividad de la Fosfatasa alcalina, aunque también se debe a la actividad de la Fosfatasa ácida como lo demuestran estudios anteriores en este tipo de suelos realizados en la Universidad del Cauca ^{[70], [71],[72]} y como lo expone López R., quien realizó un análisis a Andisoles del sur de Chile y estableció que la Fosfatasa ácida juega un rol importante en la disponibilidad de P debido al alto nivel de P orgánico presente en los Andisoles así como la alta retención de fosfato por la fracción arcilla y orgánico arcilla ^[73].

Tabla 15. Prueba de Duncan para P disponible en tiempo 2

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1,00	3	7,5713				
2,00	3		8,8343			
3,00	3			9,4493		
4,00	3				10,1897	
5,00	3					11,8437
		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000

Durante el tiempo 3, la prueba de Duncan (tabla 16), presenta igualmente diferencias significativas entre los valores del P disponible para todos los tratamientos, notándose que el tratamiento testigo continúa presentando la menor disponibilidad de fósforo independientemente del tiempo, confirmando el carácter ácido y la retención de éste nutriente por parte del suelo.

Los tratamientos con la dosis más alta presentan un mayor incremento en la disponibilidad de P, sin embargo, a diferencia de los demás tiempos el tratamiento T3 es significativamente superior, probablemente por su alto poder de neutralización

Tabla 16. Prueba de Duncan para P disponible en tiempo 3

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1,00	3	7,5030				
4,00	3		10,8803			
2,00	3			11,6397		
5,00	3				12,3127	
3,00	3					13,8763
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000

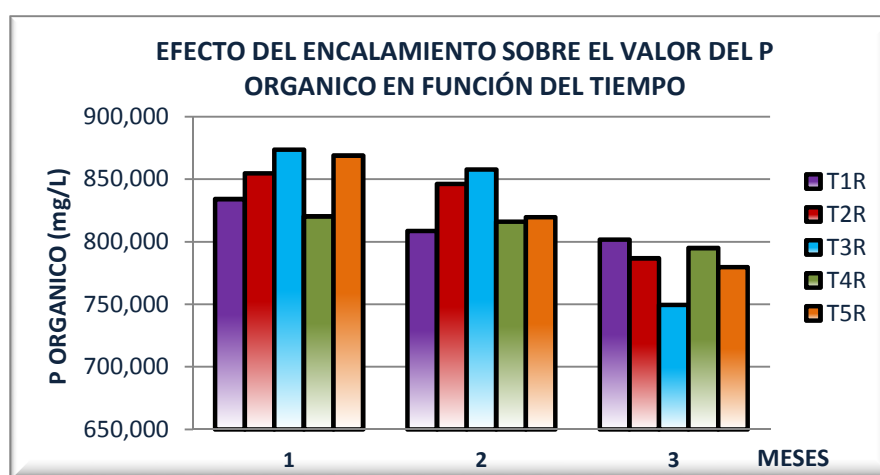
5.3.4 EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DEL P ORGÁNICO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

Los resultados se representan en la tabla 17 y figura 24.

Tabla 17. Efecto del encalamiento sobre el fósforo orgánico

TRATAMIENTO	P orgánico TIEMPO 1	P orgánico TIEMPO 2	P orgánico TIEMPO 3
T1:suelo testigo	833.975	808.467	801.667
T2:Dosis 1 cal agrícola	854.653	846.106	786.642
T3: Dosis 2 cal agrícola	873.547	857.583	749.490
T4: Dosis 1 cal dolomita	820.167	815.893	794.859
T5: Dosis 2 cal dolomita	868.748	819.599	779.657

Figura 24. Efecto del encalamiento sobre el valor del P orgánico en función del tiempo



En la figura 24 se aprecia un considerable decremento en la cantidad de P orgánico para los tratamientos encalados a través del tiempo, siendo más notorio el efecto sobre el tratamiento 3, correspondiente al suelo tratado con la segunda dosis de Cal Agrícola. La tendencia en general de los valores de ésta fracción de fósforo es inversa a los valores obtenidos para el P disponible, reafirmando la existencia de procesos de mineralización bioquímica dirigida por la fosfatasa, en la cual el P orgánico pasa a una forma disponible, justificando así su reducción.

Para el tiempo 1 la prueba de ANOVA, (Anexo 2, tabla 2) muestra diferencia significativa entre los datos. La prueba de Duncan (tabla 18), presenta 5 subconjuntos con diferencia significativa de los valores del P orgánico para todos los tratamientos, manifestando nuevamente el efecto de las cales en sus diferentes dosis sobre el contenido de este elemento en forma orgánica.

Se observa que las dosis menores contienen menor cantidad de P orgánico en comparación con las dosis mayores de cada cal correspondiente, siendo el

tratamiento T4 el de menor contenido en esta fracción de P, esto puede deberse a que el encalamiento conlleva a mejores condiciones para la proliferación de microorganismos siendo proporcional con la cantidad de de cal adicionada.

El tratamiento T3 contiene la mayor cantidad de P orgánico lo que implica una mayor posibilidad de obtener un incremento elevado en la disponibilidad de este nutriente por acción de las fosfatasa, hecho que se observó a través del tiempo (tabla 13, figura 21).

La menor cantidad de P orgánico se observa con los tratamientos que contienen Cal Dolomita atribuible a su mineralización e incremento de P disponible como se explicó anteriormente.

Tabla 18. Prueba de Duncan para fósforo orgánico en tiempo 1

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
4,00	3	820,1673				
1,00	3		833,9750			
2,00	3			854,6533		
5,00	3				868,7480	
3,00	3					873,5470
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

En la prueba de Duncan para el tiempo 2 (tabla 19), se observa que el mayor efecto sobre la cantidad de P orgánico lo continúa ejerciendo el tratamiento 3 mientras que el menor valor lo presenta el tratamiento testigo.

Los tratamientos encalados que contienen Cal Dolomita, presentan menores valores de P orgánico, además, el valor de ésta fracción de P para el tratamiento T2, correspondiente a la menor dosis de Cal Agrícola, supera el valor del tratamiento T5 (Cal Dolomita dosis 2), atribuible a que un 20% de las partículas de la Cal Dolomita tienen un menor tamaño y por ende una más rápida reacción.

Tabla 19. Prueba de Duncan para fósforo orgánico en tiempo 2

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1,00	3	808,4673				
4,00	3		815,8923			
5,00	3			819,5993		
2,00	3				846,1063	

3,00	3					857,5823
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

La prueba Duncan en el tiempo 3 (tabla 20), muestra que el tratamiento 1 contiene la mayor cantidad de P orgánico justificando el carácter ácido de estos suelos y por ende su baja disponibilidad de P, al ser limitado el proceso de mineralización y solubilización de este nutriente.

Como era de esperar, el tratamiento T3 al final de este estudio, mostró la menor cantidad de P orgánico reafirmando la existencia de procesos de mineralización, que a su vez están corroborados por la mayor disponibilidad de P durante el último tiempo (figura 21).

Los tratamientos con la menor dosis de cal presentan mayores contenidos de P orgánico, siendo T4 significativamente superior a T2 confirmando el menor valor de neutralización por parte de la Cal Dolomita.

Tabla 20. Prueba de Duncan para fósforo orgánico en tiempo 3

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
3,00	3	749,4893				
5,00	3		779,6567			
2,00	3			786,6423		
4,00	3				794,8583	
1,00	3					801,6670
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

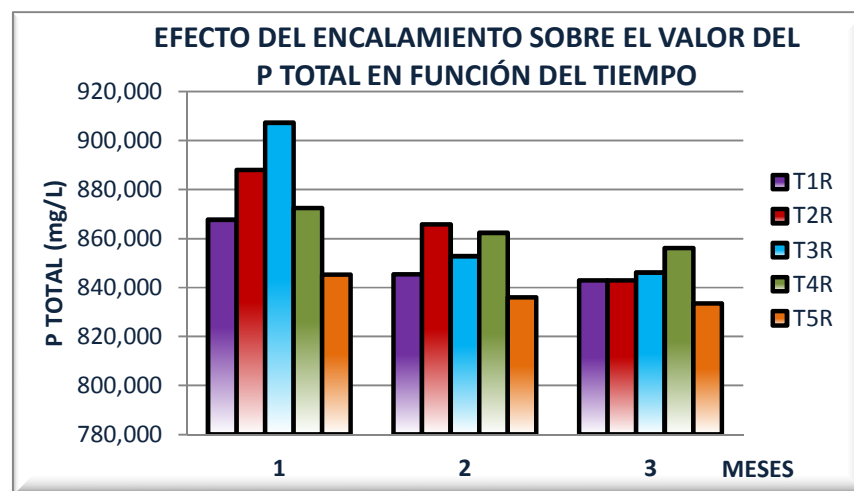
5.3.5 EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE EL VALOR DEL P TOTAL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

Los resultados se representan en la tabla 21 y figura 25.

Tabla 21. Efecto del encalamiento sobre el P total

TRATAMIENTO	P TOTAL TIEMPO 1	P TOTAL TIEMPO 2	P TOTAL TIEMPO 3
T1:suelo testigo	867.637	845.312	842.870
T2:Dosis 1 cal agrícola	887.906	865.700	842.873
T3: Dosis 2 cal agrícola	907.221	852.719	846.073
T4: Dosis 1 cal dolomita	872.350	862.278	856.053
T5: Dosis 2 cal dolomita	845.254	835.898	833.474

Figura 25. Efecto del encalamiento sobre el valor del P total en función del tiempo



De la gráfica se observa una disminución en el contenido del P total en todos los tratamientos incluyendo el testigo a medida que transcurre el tiempo, efecto contrario a lo esperado.

Los análisis estadísticos muestran que todos los datos se ajustan a la normalidad (anexo 2, tabla 1) por lo que se aplicaron pruebas paramétricas.

Para el tiempo 1, la prueba de Duncan (tabla 22), presenta 5 subconjuntos, indicando diferencias significativas entre todos los valores de los tratamientos para el P total, aún cuando no debería presentarse cambios en su nivel, demostrando nuevamente el efecto del encalamiento sobre este elemento, siendo mayor el incremento ejercido por la Cal Agrícola dosis 2 (T3) y exponiendo un marcado efecto de disminución con el tratamiento T5.

Tabla 22. Prueba de Duncan para fósforo total en tiempo 1

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
5,00	3	845,2540				
1,00	3		867,6370			
4,00	3			872,3500		
2,00	3				887,9063	
3,00	3					907,2210
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Para el tiempo 2 la prueba de Duncan (tabla 23), evidencia que el valor del P total para los tratamientos con menores dosis es superior a los tratamientos con la mayor dosis correspondiente, presentando valores mayores las muestras tratadas con Cal Agrícola.

Tabla 23. Prueba de Duncan para fósforo total en tiempo 2

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
5,00	3	835,8977		
1,00	3	845,3120	845,3120	
3,00	3	852,7190	852,7190	852,7190
4,00	3		862,2787	862,2787
2,00	3			865,6993
Sig.		0,057	0,055	0,129

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Para el tiempo 3 la prueba de Duncan (tabla 24), sugiere que al final de este análisis, el tratamiento T4 contiene la mayor cantidad de P total, mientras que el tratamiento T5, correspondiente a la segunda dosis de Cal Dolomita, denota la menor cantidad de este elemento. Además, no existen diferencias significativas entre el tratamiento testigo (T1) y el tratamiento con la menor dosis de Cal Agrícola (T2).

Tabla 24. Prueba de Duncan para fósforo total en tiempo 3

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
5,00	3	833,4740			
1,00	3		842,8700		
2,00	3		842,8737		
3,00	3			846,0730	

4,00	3	1,000	0,996	1,000	856,0500
Sig.					1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

El fenómeno de disminución de P total se puede atribuir al hecho de que la mineralización del P orgánico produce P soluble, parte de éste último se adsorbe aún sobre la fase coloidal, perdiéndose de esta manera y generando disminución en el contenido total de P de acuerdo a reacciones expuestas anteriormente en la figura 22.

5.4 ESTANDARIZACIÓN DEL METODO COLORIMETRICO UTILIZADO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA

Los parámetros utilizados para este proceso fueron los siguientes:

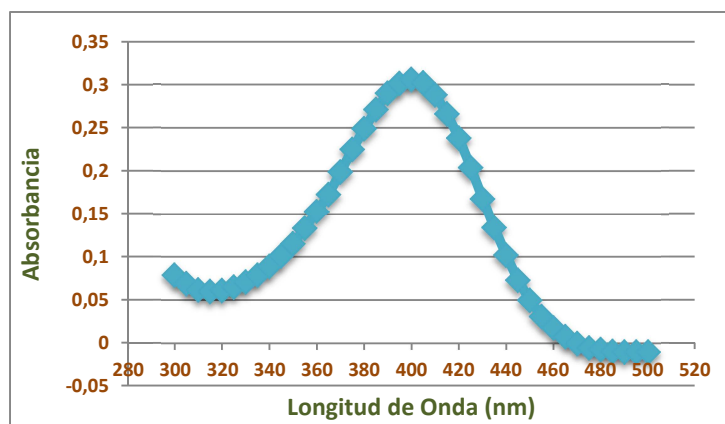
5.4.1 VALIDACIÓN DEL SISTEMA INSTRUMENTAL

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

> Selección de longitud de onda de máxima absorbancia

La longitud de onda 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. El espectro obtenido se observa en la figura 26.

Figura 26: Espectro de absorción de la solución patrón de p-nitrofenol (5 mg/L)



➤ **Preparación de la Curva de Calibración:**

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

Tabla 25: 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	10
2	3	30
3	5	50
4	7	70
5	9	90
6	12	120

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 26) respecto a los valores de absorbancia correspondientes a cada nivel de concentración.

La validación del sistema instrumental descrito 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).

5.4.2 LINEALIDAD INSTRUMENTAL

Se evaluó a 6 niveles de concentración durante 5 días diferentes. Se preparó una curva de calibración por día, la cual fue sometida al proceso descrito en la metodología. Los resultados se muestran en la tabla 26.

Tabla 26: Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental

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 27). La normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Tabla 27: 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

Corrección de la significación de Lilliefors

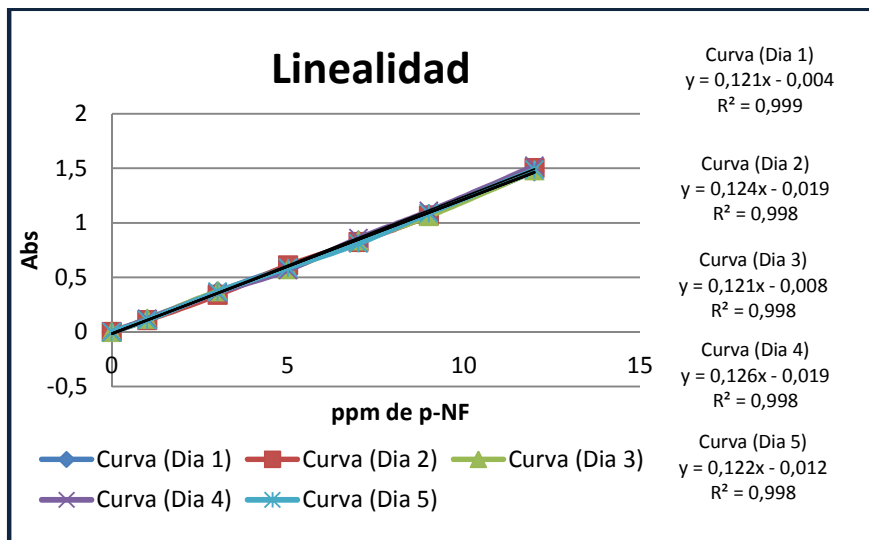
La tendencia de los datos se evaluó a través de un gráfico, relacionando la absorbancia con la concentración en mg/L. La gráfica obtenida se muestra en la figura 27, donde se observa la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar una ecuación lineal que

[] 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

relaciona la concentración de p-nitrofenol con

la absorbancia.

Figura 27: Curva de Calibración de p-nitrofenol.



Mediante análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, los resultados se muestran en la tabla 28.

Tabla 28: Evaluación estadística para la regresión lineal en la curva de calibración.

Modelo	Suma de cuadrados	Gl	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

b Variable dependiente: Absorbancia

Para evaluar la regresión se tiene una 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 28, 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.

Posteriormente se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación y sus correspondientes desviaciones estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 29.

Tabla 29: Valores para la linealidad instrumental

PARAMETRO	SIMBOLO	VALOR
Coeficiente 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 30 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 30: 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 tienen las siguientes hipótesis:

- Para la pendiente se tiene como H₀: “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 H₀: “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 31, 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 31: Resultados de 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						
	Pendiente	0,124	0,001	0,999	115,979	0,000	0,122	0,126	

a Variable dependiente: absorbancia.

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 un coeficiente de correlación equivalente a 0,998.

5.4.2.1 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 32.

Tabla 32. Repetibilidad del método colorimétrico

[] ppm PNF	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs4	Abs5	Promedio	Desviacion	%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	1.509	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 5, aceptado como máximo para repetibilidad de un método, lo que asegura que

el método analítico reporte datos con adecuado y comprobable grado de confianza y buena repetibilidad dado que los %CV son bajos [74], [75].

- **Precisión Intermedia:** Se evaluó realizando una curva de calibración en cinco días diferentes. Los resultados se observan en la tabla 33.

Tabla 33. Precisión Intermedia del método colorimétrico.

[] ppm PNF	Abs (Dia 1)	Abs (Dia 2)	Abs (Dia 3)	Abs (Dia 4)	Abs (Dia 5)	Promedio	Desviacion	%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.

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:

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

Donde:

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

C_f = Concentración teórica al nivel seleccionado

Los resultados se reportan en la tabla 34 y provienen de la interpolación en la curva de calibración reportada en la figura 27.

Tabla 34. Exactitud del método colorimétrico empleado para la determinación de la Fosfatasa alcalina

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

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

5.4.2.2 Límites Críticos

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 26 obteniendo los valores de pendiente y de intercepto a partir de la figura 27.

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

Donde:

$s_{interceptos}$: Desviación estándar de los interceptos
 m_{prom} : Promedio de las pendientes

Tabla 35. Límites críticos del método colorimétrico empleado para la determinación de la Fosfatasa alcalina

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

En la tabla 35 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.

5.5 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ENCALAMIENTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA COMO INDICADOR DE LA CALIDAD Y OTROS PARÁMETROS DE UN ANDISOL

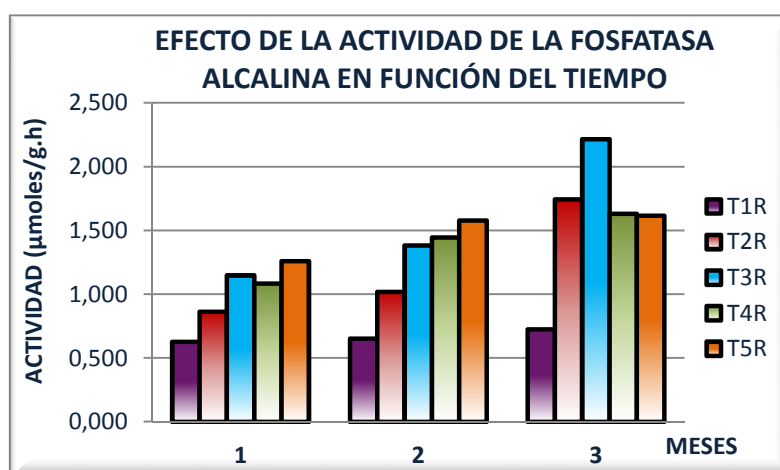
Después de estandarizar el método colorimétrico para determinar la actividad de la Fosfatasa alcalina y luego de establecer las relaciones entre los diversos parámetros analizados, se evaluó el efecto que ejerce el encalamiento sobre la

actividad de esta enzima como indicador de la calidad del suelo y la relación existente con los demás parámetros. Los resultados se observan en la tabla 36 y figura 28.

Tabla 36. Efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina

TRATAMIENTO	ACTIVIDAD TIEMPO 1	ACTIVIDAD TIEMPO 2	ACTIVIDAD TIEMPO 3
T1:suelo testigo	0.626	0.651	0.725
T2:Dosis 1 cal agrícola	0.862	1.019	1.744
T3: Dosis 2 cal agrícola	1.148	1.383	2.215
T4: Dosis 1 cal dolomita	1.084	1.445	1.632
T5: Dosis 2 cal dolomita	1.258	1.578	1.615

Figura 28. Efecto del encalamiento sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina en función del tiempo.



En la figura 28 se observa que la AFAIk del suelo testigo es inferior a la de todos los tratamientos durante todo el tiempo de ensayo, como era de esperarse.

A medida que transcurrió el tiempo, la actividad de la Fosfatasa alcalina incrementó sus valores en todos los tratamientos encaledados, indicando que las cales aplicadas en diferentes dosis producen un incremento de dicha actividad, atribuible al mejoramiento en las condiciones de reacción del suelo, lo cual genera un incremento en la disponibilidad del fósforo. Este resultado se puede asociar con la mayor actividad de los microorganismos como gasto energético, pues el comportamiento de esta enzima está relacionado con la actividad de bacterias y hongos del suelo, que conlleva un metabolismo acelerado reflejándose en la actividad enzimática^[73].

Resultados similares fueron encontrados por Dick et. al., quienes reportan que la Fosfatasa alcalina está presente en suelos ácidos pero no se expresa hasta después que el pH del suelo ha sido cambiado por la adición de CaCO_3 . De igual manera concluyen que a medida que el pH del suelo encalado incrementó, la actividad de la Fosfatasa alcalina se hizo más notoria ^[76].

Para el tiempo 1 el análisis estadístico (anexo 2, tabla 1) determina que los datos de AFAlk se ajustan a la normalidad, por lo que se aplicó pruebas paramétricas. En la tabla 37, la prueba de Duncan muestra 5 subconjuntos indicando que hay diferencias significativas entre todos los valores de la AFAlk para todos los tratamientos.

Se observa que el tratamiento testigo es significativamente inferior, indicando que las cales ejercen un efecto notable de incremento en la actividad de la Fosfatasa alcalina, siendo proporcional a la cantidad agregada.

El valor del tratamiento T5 para la AFAlk es significativamente superior a las demás muestras encaladas, sin embargo, durante este tiempo su valor de pH no es superior a los otros tratamientos, aunque exhibe una mayor disponibilidad de P.

Tabla 37: Prueba de Duncan para AFAlk en tiempo 1

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1,00	3	0,6263				
2,00	3		0,8620			
4,00	3			1,0847		
3,00	3				1,1477	
5,00	3					1,2587
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Durante el tiempo 2, la prueba de Duncan (tabla 38) indica que existen diferencias significativas entre los valores de todos los tratamientos. Se continua observando que el encalado incrementa la actividad de la Fosfatasa alcalina, teniendo en cuenta que el valor más bajo de esta actividad se obtuvo con el suelo testigo y los valores más altos fueron obtenidos con las mayores dosis de cal, debido a que el encalado permitió el incremento en la proliferación de microorganismos que generaron un ambiente más propicio para la actividad de esta enzima alcalina.

El tratamiento T5 continúa ejerciendo mayor efecto sobre la AFAlk y aunque no haya un incremento notorio en el valor del pH se mantiene un aumento paulatino

en la disponibilidad del P, lo cual verifica que se están llevando a cabo procesos bioquímicos más que de carácter químico, como se mencionó con anterioridad.

Tabla 38. Prueba de Duncan para la AFAlk en tiempo 2.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1,00	3	0,6533				
2,00	3		1,0183			
3,00	3			1,3830		
4,00	3				1,4447	
5,00	3					1,5777
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
 a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

La prueba de Duncan para el tiempo 3 (tabla 39), establece que existen diferencias significativas entre los valores de la AFAlk para todos los tratamientos, confirmando el efecto que ejerce el encalamiento en la actividad de esta enzima, aún dos meses después de su aplicación.

A diferencia de los anteriores tiempos, los tratamientos con Cal Agrícola tienen un mayor efecto sobre la actividad de esta enzima, siendo directamente proporcional a la cantidad adicionada, esto manifiesta que esta cal presenta una acción notable en forma lenta, razón por la cual es indispensable adicionar estas enmiendas al suelo con uno o dos meses de anticipación con el propósito de permitir la reacción y asimilación total.

En general, se puede percibir que a través del tiempo hay un incremento continuado de la actividad de la Fosfatasa alcalina al igual que ocurre con el pH por lo que se puede comprobar que esta enzima tiene una mayor actividad a pH menos ácidos.

Tabla 39. Prueba de Duncan para AFAlk en tiempo 3.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
1,00	3	0,7243				
5,00	3		1,6147			
4,00	3			1,6317		
2,00	3				1,7440	
3,00	3					2,2153
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Los incrementos encontrados en la actividad de esta enzima contrastan con las comunicaciones de Barroti et al., quienes no observaron efecto significativo del encalado sobre la actividad de la Fosfatasa alcalina, obteniendo por el contrario una reducción de la actividad en 29,3% indicando que la variación del pH no fue suficiente para afectar la actividad enzimática [77].

De igual forma Trasar-Cepeda et al., obtuvieron una reducción en la actividad de la Fosfatasa en suelo con adición de cal, y con variación del pH de 5,5 - 6,5 atribuyendo este hecho a características del suelo y teniendo en cuenta que la fosfatasa microbiana está sujeta a reducción por el fósforo disponible [78].

Para evaluar a nivel estadístico las posibles relaciones entre las propiedades del suelo y la actividad enzimática, se hizo análisis de correlación de Pearson.

Tabla 40. Correlaciones variables de Pearson

		Tiempo	Tratamien	% Humed.	pH	AFAIk	P disp...	P org.	P Total
Tiempo	Correlación de Pearson	1	,000	-,181	,611(**)	,550(**)	,732(**)	-,808(**)	-,648(**)
	Sig. (bilateral)	.	1,000	,234	,000	,000	,000	,000	,000
	N	45	45	45	45	45	45	45	45
Tratamiento	Correlación de Pearson	,000	1	,369(*)	,172	,584(**)	,511(**)	-,012	-,207
	Sig. (bilateral)	1,000	.	,013	,258	,000	,000	,938	,172
	N	45	45	45	45	45	45	45	45
% Humedad	Correlación de Pearson	-,181	,369(*)	1	,129	,289	,195	,080	,069
	Sig. (bilateral)	,234	,013	.	,398	,054	,198	,601	,654
	N	45	45	45	45	45	45	45	45
pH	Correlación de Pearson	,611(**)	,172	,129	1	,786(**)	,715(**)	-,558(**)	-,216
	Sig. (bilateral)	,000	,258	,398	.	,000	,000	,000	,154
	N	45	45	45	45	45	45	45	45
Actividad de la Fosfatasa Alcalina	Correlación de Pearson	,550(**)	,584(**)	,289	,786(**)	1	,939(**)	-,541(**)	-,358(*)
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,054	,000	.	,000	,000	,016
	N	45	45	45	45	45	45	45	45
Fósforo Disponible	Correlación de Pearson	,732(**)	,511(**)	,195	,715(**)	,939(**)	1	-,684(**)	-,533(**)
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,198	,000	,000	.	,000	,000
	N	45	45	45	45	45	45	45	45
Fósforo Orgánico	Correlación de Pearson	-,808(**)	-,012	,080	-,558(**)	-,541(**)	-,684(**)	1	,581(**)

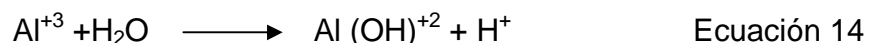
	Sig. (bilateral)	,000	,938	,601	,000	,000	,000	.	,000
	N	45	45	45	45	45	45	45	45
Fósforo Total	Correlación de Pearson	- ,648(**)	-,207	,069	-,216	-,358(*)	-,533(**)	-,581(**)	1
	Sig. (bilateral)	,000	,172	,654	,154	,016	,000	,000	.
	N	45	45	45	45	45	45	45	45

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

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

Se aprecia una correlación positiva y altamente significativa del tiempo con el pH, la AFAlk y P disponible, indicando que la acidez del suelo se redujo a medida que transcurrió el tiempo por efectos de encalamiento, esto conllevó a mejorar la estructura, propiedades y condiciones del suelo y permitió una mayor actividad de la Fosfatasa e incremento en la disponibilidad del P. A su vez, el tiempo correlaciona de una forma negativa y altamente significativa con el P orgánico, atribuible a su mineralización e incremento así del P disponible, por efecto de la actividad de la AFAlk corroborando la existencia de procesos bioquímicos. La correlación negativa y altamente significativa con el P total se explica por procesos de adsorción del P liberado a la solución del suelo.

Se observa una correlación positiva y significativa de la humedad con el tratamiento. Esto es explicable teniendo en cuenta los análisis del Instituto de la Potasa y El Fósforo en América Latina (INPOFOS, 1997), quienes establecen que los procesos y reacciones por los cuales la cal reduce la acidez del suelo son muy complejos, sin embargo, una visión simplificada de estos procesos explica cómo funciona la cal. Así, la principal fuente de H⁺ en la mayoría de los suelos de pH menor a 5.5 es la reacción de Al con el agua, como se demuestra en la siguiente ecuación:



Esta reacción libera H⁺ y a su vez incrementa la cantidad de Al⁺³ listo para reaccionar nuevamente. La cal incrementa el pH, al convertir parte del H⁺ en agua. Los iones de Ca⁺² de la cal reemplazan al Al⁺³ en los sitios de intercambio y el ion carbonato reacciona con el agua de la solución del suelo, creando un exceso de iones OH⁻, que a su vez reaccionan con el exceso de H⁺ formando agua e incrementando así la humedad.

De igual forma, Molina, expresa que el efecto de las reacciones de la cal reduce la acidez del suelo al convertir el exceso de H⁺ en H₂O^[60]. Sin embargo, es muy importante observar que el efecto del encalado va más allá de estas reacciones.

El incremento del pH permite la precipitación del Al³⁺ como Al(OH)₃, que es un compuesto insoluble, eliminando de esta forma el efecto toxico del Al³⁺ en las plantas y la principal fuente de iones H⁺. Así mismo, las aplicaciones de cal

precipitan el manganeso (Mn) y el hierro (Fe) que en ocasiones se encuentran en exceso en suelos ácidos.

La Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, indica que los mecanismos de reacción de los materiales encalantes en el suelo, permiten la neutralización de los iones H^+ en la solución del suelo, por medio de los iones OH^- producidos al entrar en contacto la cal con el agua del suelo. Es por esta razón que la cal es efectiva solamente cuando existe humedad en el suelo.

El pH presenta una correlación positiva y altamente significativa con la AFAlk, indicando que a mayor pH mayor es la actividad de la enzima por efecto del encalamiento, incidiendo en la correlación positiva y altamente significativa entre el pH y P disponible, mostrando el efecto directo que ejerce el pH sobre la transformación del fósforo por medio de procesos de mineralización que incrementaron su disponibilidad, reduciendo a su vez los contenidos de P orgánico, como se puede corroborar por la correlación negativa y altamente significativa entre el pH y esta fracción de P.

En cuanto a la AFAlk, existe correlación positiva y altamente significativa con el encalamiento, indicando que el tratamiento con cal independientemente de su fuente, genera incremento en la AFAlk debido a que esta enzima tiene mayor actividad a valores de pH superiores tal como lo demostró en sus estudios Tabatabai^[1] y comprobándose con la correlación positiva y significativa de esta actividad con el pH.

Se aprecia correlación positiva y altamente significativa entre esta actividad y el P disponible mostrando que un incremento en la actividad de la enzima genera incremento en la disponibilidad del P, por procesos de mineralización. Este resultado concuerda con lo encontrado por Fuentes S., quien sugiere que la AFAlk puede mineralizar los compuestos orgánicos de P, presentes en las fracciones disponibles generando un incremento del P disponible^[79].

A su vez el P disponible presenta correlación positiva y altamente significativa con el tratamiento, la AFAlk y el pH, confirmando que el incremento en su disponibilidad se atribuye al efecto del encalamiento que al aumentar el valor de pH activa la Fosfatasa alcalina y de esta manera aumenta la mineralización del P orgánico.

La correlación negativa y significativa entre el P disponible y el P orgánico, corrobora el planteamiento anterior de que la mineralización del P orgánico por la AFAlk es efecto del mejoramiento de las condiciones químicas del suelo, mostrando de esta manera una correlación positiva y altamente significativa entre ésta y el P disponible. La correlación negativa y altamente significativa entre el P disponible y P total se atribuye como se explicó anteriormente a procesos de

adsorción del P presente en la solución del suelo o a procesos de su pérdida por lavado.

Este mismo hecho explica la correlación negativa y altamente significativa entre el P total y la AFAIk, P disponible. El P total no presenta correlación significativa con el tratamiento, aspecto que concuerda con lo reportado por Neufeldt et al., 1999; Lilienfein et al., 2002; Cardoso et al., 2003, quienes no encontraron relaciones significativas del P total con los tratamientos encalados, esto puede estar relacionado con el alto contenido de arenas, lo cual favorece una menor capacidad de retención de fosfatos, así como su lavado de perfil ^{[80], [81], [82]}.

6. CONCLUSIONES

- El suelo analizado presenta textura franco arenosa, es fuertemente ácido, atribuible a la presencia de alófanos, se caracteriza por sus altas deficiencias de nutrientes principalmente P, bases de cambio y microelementos. Su relación C/N muestra un proceso normal de mineralización, presentando altos contenidos de N y MO que explican su alta CIC. Su alto valor de MO retiene fuertemente el aluminio.
- El suelo exhibe un efecto fuerte de tamponamiento, puesto que altos cambios en la adición de cal producen pequeños incrementos en el valor del pH. Siendo necesario aplicar 1.23 y 0.7 ton /Ha de Cal Dolomita y Cal Agrícola respectivamente para llevar el pH a un valor de 5.2. Se deben aplicar 3.08 y 1.71 ton/ha de Cal Dolomita y Cal Agrícola respectivamente para llevar el suelo a un valor de pH de 5.5.
- Se logró implementar el método colorimétrico en el equipo espectrofotómetro UV-vis Genesys 20[®] para la determinación de actividad de la Fosfatasa alcalina, 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 alcalina en Andisoles caucanos con niveles altos de MO.

- El encalamiento con ambas cales produjo incremento en el valor del pH, en la AFAlk, por tanto en la mineralización del P orgánico e incremento en la disponibilidad de P a través del tiempo.

- La correlación positiva y altamente significativas entre la actividad de la Fosfatasa alcalina y el P disponible indica los efectos causados por el encalamiento y los constantes procesos de mineralización del P orgánico llevados a cabo en el suelo, favoreciendo el desarrollo y potencial genético de las plantas.

- Se puede considerar la AFAlk como un indicador sensible al encalamiento puesto que desde el tiempo cero de aplicación se incrementa significativamente. La Cal Dolomita produce el mayor incremento durante el primer mes de su aplicación con valores comprendidos entre 1.445 y 1.578 $\mu\text{moles/g.h}$, mientras que el incremento de la Cal Agrícola es superior en el segundo mes con valores entre 1.744 y 2.215 $\mu\text{moles/g.h}$.

BIBLIOGRAFÍA

1. TABATABAI A.M.; WEAVER R.W.; ANGLE S.; BOTTOMLEY P. (1994). *Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties.* 1994. pp 775-814.
2. MARTINEZ L.; POTOSÍ S. (2005). *Fraccionamiento de Fosforo y su Correlación con la Materia Orgánica y otras Propiedades de los suelos del Departamento del Cauca. Trabajo de grado (Químico).* Universidad del Cauca. Popayán.
3. 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.
4. MALAGON. C.; PULIDO, R. Carlos. (1995). *Suelos de Colombia, origen, evolución, clasificación.* Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Pág. 289-326.
5. 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. Octubre.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. CERÓN R. L., MELGAREJO M. LUZ M. (2005). *Soil Enzymes: Health and Quality Indicators.* Acta Biológica Colombiana, Vol. 10 No. 1.
10. KARLEN et al. (1997). *Comité para la Salud del Suelo de la Soil Science Society of America.*
11. LANDRES et. al, (1988), *Conservation Biology* 2:316:328; Kelly y Harwell, 1990, *Enviromental Management* 14: 527:545; Cairns, 1993,

Journal of Clean Technology and Environmental Science 1:1-11; Dale y Beyler, 2001, Ecologicas 1:3-10).

12. BERTSCH, F. (1986). Manual para interpretar la fertilidad de los suelos de Costa Rica, San José, Universidad de Costa Rica.
13. DATTARI. (2004). La Importancia de la Materia Orgánica en el Suelo. Julio, Revista Terralia.
14. MOSQUERA C. (2006). Caracterización Preeliminar de la Estructura de los Ácidos Húmicos de un suelo Andisol del Departamento del Cauca. Trabajo de grado (Químico). Universidad del Cauca. Popayan.
15. 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.
16. 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.
17. 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: 4-10.
18. HERITAGE J.; EVANS EGV.; KILLINGTON RA. (1999). Microbiology in action. Cambridge University Press, Reino Unido. pp.209
19. ELLIOTT, E. T.; COLEMAN, D. C. (1988). Let the soil work for us. Ecological Bulletins 39:23-32.
20. PANKHURST, C. E.; 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 35:1015- 1028.
21. CARTER, MR; GREGORICH, EG; ANGERS, DA; BEARE, MH; SPARLING, GP; WARDLE, DA; VORONEY, R. P. (1999). Interpretation of microbial biomass measurements for soil quality assessment in humid temperate regions. Canadian Journal of Soil Science 79:507-520.
22. NIELSEN, M. N.; WINDING, A. (2002). Microorganisms as indicators of soil health. National Environmental Research Institute (NERI), Denmark. Technical Report N° 388. pp.82

23. 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 (mayo-ag). ISSN 1697-2473, pp. 90-97.
24. GIRALDO, E. (2002). Agroquímica: Un Estudio de los Nutrientes Esenciales en la Producción Agrícola. Universidad del Cauca. Popayán.
25. GRIFFITHS B.S.; M. BONKOWSKI, J. ROY, K. RITZ. (2001). Functional Stability Substrate, Utilisatión and Biological Indicators of Soil Following Environmental Impacts. Applied Soil Ecology 16: pp.49-61.
26. GARAVITO, F., (1974). Propiedades Químicas de los Suelos. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Vol. 10. No 11. Bogotá.
27. BECK, M. A.; Sanchez, P. A. (1994). Soil phosphorus fraction dynamics during 18 years of cultivation on a Typic Paleudult. Soil Sci. Soc. Am. J 58: pp.1424-1431.
28. FASSBENDER, H.; BOMEMISZA, E. (1987). Química de Suelos con Énfasis en Suelos de América Latina. Costa Rica. pp. 7, 11 y 121-124.
29. KARLEN, D.L.; (2008). Biogeochemical Processes Influencing Formation and Stabilization of Soil Organic Matter and Soil Structure. Agricultural Reserarch Service. Soil Science Society of America J. 65: 7-11.
30. 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.
31. ŠARAPATKA B. (2003). Phosphatase activities (ACP, ALP) in agroecosystem soils. Department of Ecology and Crop Production Science Uppsala. Sueciae. Doctoral thesis. Universitatis Agriculturae Sueciae.
32. FERREIRO J. (2007). Propiedades bioquímicas de suelos de prado de Galicia. Tesis doctoral. USC. Facultad de farmacia.
33. GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, M. T. (2000). Investigación y perspectivas de la enzimología de suelos en España. C.S.I.C., Murcia.
34. STEVENSON, F.J. (1986): Cycles of soil (carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients). John Wiley and Sons, New York. pp 231 – 28.

35. COYNE, M. (2000). Microbiología del suelo: Un enfoque exploratorio. Madrid: Paraninfo. pp. 416.
36. NANNIPIERI P.; Kandeler E.; Ruggiero P. (2002). Enzymes activities and microbiological and biochemical processes in soil En: Burns RG y Dick R (editores), Enzymes in the environment activity, ecology and applications. New York: Marcel Dekker. pp 491-538.
37. ACOSTA-Martínez, V.; Tabatabai, M. A. (2000). Enzyme activities in a limed agricultural soil. Biol Fertil Soils. Vol 31: pp.85-91
38. GIANFREDA L.; Bollag J.M. (1994). Effect of soils on the behavior of immobilized enzymes. Soil Science Society of American Journal 58, pp. 1672-1681.
39. LEIROS, M.; TRASAR-CEPEDA; C., SEOANE, S.; GILSOTRES, F. (2000). Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): general parameters. Soil Biol. Biochem. 32: 733-745.
40. 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.
41. SÁNCHEZ de P., M. (2003). Actividad biológica en la rizósfera del maracuyá –Pasiflora edulis var flavicarpa- en diferentes sistemas de manejo, estados de desarrollo y condiciones fitosanitarias. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. p.p 261.
42. BURNS, R. G. (1982). Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. Soil Biology and Biochemistry 14, 423-427.
43. FOX, T. R.; N. B. COMERFORD. (1992). Rhizosphere phosphatase activity and phosphatase hydrolyzable organic phosphorus in two forested spodosols. Soil Biol. Biochem. 24:579-583.
44. EIVAZI, R.; M. A. TABATABAI. (1977). Phosphatases in soils. Soil Biol. Biochem. 9:167-172.
45. HALSTEAD, R. L.; R. B. MCKERCHER. (1975). Biochemistry and cycling of phosphorus. In: Soil biochemistry (A.E. Paul and A.D. MacLaren, eds.) New York. Marcel Dekker. Vol. 4. pp.31-63.

46. SHIPRA, Garg; G.S. Bahl (2007). Phosphorus availability to maize as influenced by organic manures and fertilizer P associated phosphatase activity in soils. Department of Soils, Punjab Agricultural University, Ludhiana, India. p.p. 5755.
47. TETSUYA, Shinozaki; Hideomi Watanabe, Kenji Takagishi, And Kenneth P. H. Pritzker. (1998). Allotype immunoglobulin enhances alkaline phosphatase activity: Implications for the inflammatory response. Gunma, Japan, and Toronto, Ontario, Canada. Vol. 132 No. 34.
48. MOURA R. Silva. (2004). Mecanismo de Control de la Trascricpción el Promotor PHOA Regulado por Fosfato en *Streptomyces Griseus*. Trabajo de Grado. Universidad León. Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales.
49. MARTINEZ V.; M.A TABATABAI. (2000). Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol Fertil Soils* 31:85–9.
50. GOMEZ, Y. (2004). Actividad de las Fosfatasas Acida y Alcalina(Extracelulares E Intracelulares) en Hongos de la Rizosfera de *Arachis Hypogaea*(Papiloneaceae). *Rev. Biol. Trop.* 52 (1):287-295.
51. BOLAN N. Adriano D.; Curtin D. (1993). Soil acidification and liming interactions whit nutrient and heavy metal transformation and bioavailability. *Advances in Agronomy* 1, 215-272.
52. ARNOLD FINCK. (2009). Fertilizantes y fertilización. Editorial Reverte. ISBN 8429110100.
53. MOLINA, Eloy M. (1998). Acidez de Suelo y Encalado. Centro de Investigaciones Agronómicas Universidad de Costa Rica. Tomado de: Molina, E. 1998. Encalado para la corrección de la acidez del suelo, ACCS, San José, Costa Rica. pp. 40.
54. EIVAZI F.; TABATABAI A., (1977). Phosphatases in Soils. *Soil.Biol., Biochem...* pp. 167-172.
55. TABATABAI M.; BREMNER J. (1969). Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* pp. 301-307.
56. SAÁ, A.; TRASAR-CEPEDA; C., GIL-SOTRES; F. CARBALLAS, T., (1993). Changes in Soil Phosporus and acid phosphatase activity immediately following forest fires. *Soil Biology an Biochemestry* 25. 1223-1230.

57. BRAVO R.; Isabel; MARQUÍNEZ, Luisa; POTOSI, Sandra. (2007). Fraccionamiento del Fósforo y correlación con la materia orgánica en dos suelos del departamento del Cauca. Universidad del Cauca, Popayán.
58. 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.
59. WESLEY, Laurence D. (1998). Geotechnical Characterisation and Behaviour Allophane Clays. University of Auckland, Auckland, New Zeland.
60. Molina E. (1998). Encalado para la Corrección de Acidez del Suelo. Centro de Investigaciones Agronómicas ACCS, .Universidad de Costa Rica, San José. p.p 45.
61. SERPA, R.; M. González. (2003). Necesidad de Cal en Tres Suelos Ácidos de Costa Rica. Agro. Costa 3 (2). pp. 101- 108.
62. PEZZINI, M.; Cisneros, J.M.; Moreno, I.S. (2010). Encalado en Suelos del Área Manisera: Efectos Sobre el pH y la Saturación con Calcio. Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC. Córdoba.
63. URBANO, P. (2001). El suelo y los fertilizantes. Fertiberia. España.
64. OCAMPO J., Chavariaga W.; Ceballos N. (2007). Valoración de tres Fuentes de Calcio en Suelos Ácidos de la Granja Tesorito y la Respuesta en Producción para el Cultivo de Arveja. Programa de Agronomía, Universidad de Caldas. Agron. 15(2): 7- 15. p.p 10-13.
65. FUENTES, J. L. (2005). Manual práctico sobre utilización del suelo y fertilizantes. Madrid.
66. TISDALE, S. L.; W. L. NELSON; J.D. BEATON and J. L. HAVLIN. (1993). Soil Fertility and Fertilizers. Mc. Millan Publishing Company. Fifth Edition. N.Y. pp.633.
67. TSAI, S.M. ; ROSSETTO R. (1992). Transformacoes microbianas do fósforo. In Microbiologia do Solo. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Campinas, Brasil.
68. CHEN, C. R.; Condrón, L. M.; Davis, M. R.; Sherlock, R. R. (2002). Phosphorus dynamics in the rhizosphere of perennial ryegrass (*Lolium*

perenne L.) and radiata pine (*Pinus radiata* D. Don.). *Soil Biol. Biochem.* 34(4): 487–499.

69. GARG, S., Bah, I G.S. (2008). Phosphorus availability to maize as influenced by organic manures and fertilizer P associated phosphatase activity in soils. Department of soils. Punjab Agricultural University, Ludhiana, India. *Science Direct* 99, p.p 5773-5777.
70. BRAVO, R. Isabel; HOYOS, Andersson; FIGUEROA, Apolinar. (2010). "Impacto de Fertilizantes Fosfatados sobre un Indicador Bioquímico de La Calidad de Suelos Altoandinos en el Departamento del Cauca". Ponencia oral en XV Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo "El Suelo Soporte de la Biodiversidad y la Producción Agrícola en los Agroecosistemas tropicales" Comisión I fertilidad de Suelos y Producción Agrícola. Octubre 27 28 y 29 de 2010. Pereira Colombia.
71. BRAVO, R. Isabel; ANTE, Libardo, FIGUEROA Apolinar. (2010). "Efecto de Abonos Orgánicos sobre la Fosfatasa ácida Indicador Bioquímico de Cambios a Corto Plazo en Andisoles Caucanos". Ponencia en XV Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo "El Suelo Soporte de la Biodiversidad y la Producción Agrícola en los Agroecosistemas tropicales" Comisión II Química de Suelos. Octubre 27 28 y 29 de 2010 Pereira Colombia.
72. BRAVO, R. Isabel; ARBOLEDA, Camilo; FIGUEROA, Apolinar. (2010). "Encalamiento y su efecto sobre la AFA y mineralización de P en un Andisol Caucano. Comisión II Química de Suelos. Octubre 27 28 y 29 de 2010 Pereira Colombia.
73. LÓPEZ, R. (2006) Evaluación del efecto de Molibdeno sobre algunos Parámetros Bioquímicos del Suelo y la Planta en Andisoles del Sur de Chile. Tesis Doctoral, (Ciencias de Recursos Naturales).Universidad de La Frontera. Temuco, Chile. pp. 69-73.
74. 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.
75. CISNEROS O. William A. (2006). Validación de Métodos Analíticos para la Determinación de: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5), 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.

76. DICK W.A.; CHENG L.; WANG P. (2000). Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. Department of Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, People's Republic of China. *Soil Biology & Biochemistry* 32 (2000) 1915–1919.
77. BARROTI, G.; NAHAS, E. (2003). El fósforo y el encalado sobre las Fosfatasa y la producción de *Braquiaria razziensis* y Cajanos Cajan *Agronomía Trop.* V. 53 No 2 Maracay p.p 15
78. TRASAR-CEPEDA, M. C., T. CARBALLAS, F. GIL-SOTRES and E. BLAS. (1991). Liming and the phosphatase activity and mineralization of phosphorus in an andic soil. *Soil Biol. Biochem.* 23: 209-215.
79. FUENTES, S. (2009). Evaluación de la Disponibilidad de Fósforo durante el Proceso de Degradación Aerobia de la Excreta de Bovino y su Aplicación en un Suelo de Origen Volcánico. Tesis Doctoral, (Ciencias de Recursos Naturales). Universidad de La Frontera. Temuco, Chile. pp. 52-80.
80. NEUFELDT, H., J. E. Da Silvia, M. A. Ayarza, M. y W. Zech. (1999). Phosphorus fractions under different land-use systems in oxisols of the Brazilian. Thomas, R. y M. A. Ayarza (eds.) *Sustainable Land Management for the Oxisol of the Latin American savannas*. CIAT. Cali. Colombia. Pp. 146-158.
81. LILIENFEIN, J., W. Wilcke, M.A. Ayarza, L. Vilela, S. do Cardo Lima y W. Zech. (2002). Chemical Fractionation of phosphorus, sulfur and molybdenum in Brazilian Savannah Oxisols under different land use. *Geoderma* 96: 31-46.
82. CARDOSO, I.M., P. Van der Meer, O: Oenema, B: H. Janssen y T. W. Kuyper. (2003). Analysis of ³¹P NMR in oxisols under agroforestry and conventional coffee systems in Brazil. *Geoderma* 112: 51-70.

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 de plantas	<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 1. Prueba de normalidad en tiempo 1

	TRATAMIE	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
HUMEDA D	1,00	0,831	3	0,190
	2,00	0,951	3	0,573
	3,00	0,981	3	0,736
	4,00	0,794	3	0,100
	5,00	0,857	3	0,260
PH	1,00	0,750	3	0,000
	2,00	0,750	3	0,000
	3,00	0,750	3	0,000
	4,00	0,750	3	0,000
	5,00	0,750	3	0,000
AFALK	1,00	0,974	3	0,688
	2,00	0,803	3	0,122
	3,00	0,987	3	0,780
	4,00	0,855	3	0,253
	5,00	0,944	3	0,543
PDISP	1,00	0,986	3	0,778
	2,00	0,950	3	0,571
	3,00	0,997	3	0,900
	4,00	0,891	3	0,358
	5,00	0,810	3	0,138
PORG	1,00	1,000	3	0,992
	2,00	0,986	3	0,772
	3,00	1,000	3	0,979
	4,00	0,975	3	0,695
	5,00	0,909	3	0,415
PTOTAL	1,00	0,999	3	0,952
	2,00	0,999	3	0,930
	3,00	0,930	3	0,490
	4,00	,999	3	0,947
	5,00	,905	3	0,402

Tabla 2. Prueba de ANOVA en tiempo 1

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
HUMEDAD	Inter-grupos	366,288	4	91,572	2,284	,132
	Intra-grupos	400,969	10	40,097		
AFALK	Total	767,258	14		1427,811	,000
	Inter-grupos	,763	4	,191		
PDISP	Intra-grupos	,001	10	,000	226,355	,000
	Total	,765	14			
PORG	Inter-grupos	12,530	4	3,133	1455,402	,000
	Intra-grupos	,138	10	,014		
PTOTAL	Total	12,668	14		734,052	,000
	Inter-grupos	6222,459	4	1555,615		
PTOTAL	Intra-grupos	10,689	10	1,069	1608,797	,000
	Total	6233,147	14			
PTOTAL	Inter-grupos	6435,190	4	1608,797	734,052	,000
	Intra-grupos	21,917	10	2,192		
PTOTAL	Total	6457,106	14			

Tabla 3. Prueba de Normalidad en tiempo 2

	TRATAMIE	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
HUMEDAD	1,00	0,936	3	0,513
	2,00	0,969	3	0,660
	3,00	0,909	3	0,415
	4,00	0,923	3	0,463
	5,00	0,954	3	0,585
PH	1,00	0,750	3	0,000
	2,00	1,000	3	1,000
	3,00	0,750	3	0,000
	4,00	0,750	3	0,000
	5,00	0,750	3	0,000

Continuación Tabla 3. Prueba de Normalidad tiempo 2

		Shapiro Wilk		
		ESTADISTICO	gl.	Sig.
AFALK	1,00	0,964	3	,637
	2,00	0,989	3	0,800
	3,00	0,964	3	0,637
	4,00	0,984	3	0,756
	5,00	1,000	3	0,959
PDISP	1,00	0,835	3	0,201
	2,00	1,000	3	0,959
	3,00	0,800	3	0,115
	4,00	0,925	3	0,471
	5,00	0,869	3	0,293
PORGANIC	1,00	0,976	3	0,704
	2,00	0,973	3	0,684
	3,00	0,967	3	0,649
	4,00	0,846	3	0,230
	5,00	0,851	3	0,243
PTOTAL	1,00	0,895	3	0,371
	2,00	0,881	3	0,326
	3,00	1,000	3	0,967
	4,00	0,981	3	0,734
	5,00	0,992	3	0,826

Tabla 4. Prueba de ANOVA en tiempo 2

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
HUMEDAD	Inter-grupos	129,879	4	32,470	2,575	0,013
	Intra-grupos	126,109	10	12,611		
	Total	255,988	14			
AFALK	Inter-grupos	1,700	4	0,425	2221,941	0,000
	Intra-grupos	0,002	10	,000		
	Total	1,702	14			
PDISP	Inter-grupos	30,311	4	7,578	590,466	0,000
	Intra-grupos	0,128	10	0,013		
	Total	30,439	14			
PORGANIC	Inter-grupos	5369,845	4	1342,461	720,112	0,000
	Intra-grupos	18,642	10	1,864		
	Total	5388,487	14			
PTOTAL	Inter-grupos	1791,381	4	447,845	5,326	0,015
	Intra-grupos	840,811	10	84,081		
	Total	2632,193	14			

Tabla 5. Prueba de normalidad tiempo 3

	TRATAMIE	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
HUMEDAD	1,00	0,949	3	0,565
	2,00	0,969	3	0,660
	3,00	0,909	3	0,415
	4,00	0,923	3	0,463
	5,00	0,954	3	0,585
PH	1,00	0,958	3	0,605
	2,00	0,987	3	0,780
	3,00	0,824	3	0,174
	4,00	0,923	3	0,463
	5,00	0,964	3	0,637
AFALK	1,00	0,923	3	0,463
	2,00	0,955	3	0,593
	3,00	0,992	3	0,831
	4,00	0,980	3	0,726
	5,00	0,855	3	0,253
PDISP	1,00	0,882	3	0,329
	2,00	0,984	3	0,756
	3,00	0,965	3	0,642
	4,00	0,866	3	0,285
	5,00	0,996	3	0,874
PORG	1,00	0,896	3	0,373
	2,00	0,916	3	0,438
	3,00	0,952	3	0,577
	4,00	0,786	3	0,083
	5,00	0,937	3	0,516
PTOTAL	1,00	0,827	3	0,180
	2,00	0,823	3	0,172
	3,00	0,838	3	0,208
	4,00	0,838	3	0,208
	5,00	0,999	3	0,930

Tabla 6. Prueba de ANOVA en tiempo 3

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
HUMEDAD	Inter-grupos	325,506	4	81,377	4,463	0,025
	Intra-grupos	182,344	10	18,234		
	Total	507,850	14			
PH	Inter-grupos	2,491	4	0,623	481,461	0,000
	Intra-grupos	0,013	10	0,001		
	Total	2,504	14			
AFALK	Inter-grupos	3,499	4	0,875	13082,764	0,000
	Intra-grupos	0,001	10	0,000		
	Total	3,500	14			
PDISP	Inter-grupos	47,029	4	11,757	1599,739	0,000
	Intra-grupos	0,073	10	0,007		
	Total	47,102	14			
PORG	Inter-grupos	4905,129	4	1226,282	1082,897	0,000
	Intra-grupos	11,324	10	1,132		
	Total	4916,453	14			
PTOTAL	Inter-grupos	787,448	4	196,862	274,218	0,000
	Intra-grupos	7,179	10	0,718		
	Total	794,627	14			