

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL FUNGICIDA CYMOXANIL +
MANCOZEB SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS Y
ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE UN SUELO
CULTIVADO CON FRÍJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)**

AMPARO BEDOYA TÉLLEZ

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYÁN
2009

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL FUNGICIDA CYMOXANIL +
MANCOZEB SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS Y
ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE UN SUELO
CULTIVADO CON FRÍJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)**

AMPARO BEDOYA TÉLLEZ

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Bióloga

Directora:

Neyla Benítez Campo, M.Sc.

Asesora:

Isabel Bravo Realpe, M.Sc.

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYÁN

2009

Nota de Aceptación

Neyla Benítez Campo, M.Sc.
Directora del trabajo de grado

Gerardo Ignacio Naundorf, M.Sc.
Jurado

Oscar Darío Bermúdez, M.Sc.
Jurado

Popayán, marzo 13 de 2009

DEDICATORIA

A Dios por ser mi luz y guía,

A mis padres Luís Horacio y Amparo por su inmenso cariño, apoyo y confianza;

A mi esposo Enrique por su amor incondicional, por ser la mano que me ayudó a seguir adelante para alcanzar mis logros;

A mis hermanas Patricia y Adriana, y a mis sobrinas Geraldine y Daniela por creer en mi y acompañarme siempre;

Y en general a mi familia por ser la razón que me da ánimo para cumplir mis metas;

A mis profesores por su orientación y a mis compañeros por su amistad.

Todo tiene un momento oportuno; hay un tiempo para todo lo que se hace bajo el cielo... un tiempo para plantar y un tiempo para cosechar. Eclesiastés 3: 1-2

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis profesores por su enseñanza y por todos los consejos que de ellos recibí.

A la profesora Neyla Benítez Campo, directora de la tesis, por las sugerencias para realizar el trabajo práctico de los análisis microbiológicos y su ayuda para terminar de escribir el informe final.

A la profesora Isabel Bravo Realpe, asesora de la tesis, por su apoyo en la realización de los análisis físicos y químicos y sus recomendaciones en la finalización de la tesis.

A Jhon Meléndez, tecnólogo del laboratorio de Biología de la Universidad del Cauca por su ayuda en el manejo de los implementos del laboratorio, que hicieron posible la realización de este trabajo.

Al profesor Silvio Carvajal por su colaboración para el manejo e interpretación del análisis estadístico de esta tesis.

A todos mis compañeros por ofrecerme su amistad y por todo lo que aprendí de cada uno de ellos.

TABLA DE CONTENIDO

| | Pág. |
|---|-------------|
| RESUMEN | 6 |
| INTRODUCCION | 7 |
| 1 ANTECEDENTES | 10 |
| 2 MARCO TEÓRICO | 15 |
| 2.1 Importancia de los microorganismos del suelo | 15 |
| 2.1.1 Bacterias | 16 |
| 2.1.2 Actinomicetos | 17 |
| 2.1.3 Mohos y levaduras | 18 |
| 2.2 Plaguicidas | 20 |
| 2.2.1 Fungicida Curzate | 20 |
| 2.3 Parámetros físicos y químicos del suelo | 23 |
| 2.3.1 Humedad | 23 |
| 2.3.2 El pH | 23 |
| 2.3.3 Materia orgánica | 25 |
| 2.3.4 Nitrógeno | 25 |
| 2.3.5 Fósforo | 26 |
| 2.3.6 Textura | 28 |
| 3 METODOLOGÍA | 29 |
| 3.1 Preparación del suelo y sitio de muestreo | 29 |
| 3.2 Análisis microbiológicos | 31 |
| 3.2.1 Preparación de la muestra | 31 |
| 3.2.2 Preparación de las diluciones | 31 |
| 3.2.3 Recuento de bacterias | 31 |
| 3.2.4 Recuento de mohos y levaduras | 32 |
| 3.2.5 Recuento de actinomicetos | 32 |
| 3.2.6 Identificación de mohos y levaduras | 32 |
| 3.2.6.1 Técnica de microcultivo | 32 |
| 3.2.6.2 Técnica de la cinta adhesiva | 33 |
| 3.3 Análisis físicos del suelo | 33 |
| 3.3.1 Humedad | 3 |
| 3.3.2 Textura | 34 |
| 3.4 Análisis químicos del suelo | 34 |
| 3.4.1 pH | 3 |
| 3.4.2 Materia orgánica | 34 |
| 3.4.3 Determinación de nitrógeno | 35 |

| | | |
|----------------|---|-----------|
| 3.4.4 | Determinación de fósforo | 35 |
| 3.6 | Diseño experimental y análisis estadístico | 35 |
| 4 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 36 |
| 4.1 | Análisis microbiológicos | 36 |
| 4.1.1 | Conteo de población de microorganismos | 36 |
| 4.1.1.1 | Conteo de bacterias | 36 |
| 4.1.1.2 | Conteo de actinomicetos | 38 |
| 4.1.1.3 | Conteo de mohos y levaduras | 40 |
| 4.2 | Resultados de parámetros físicos y químicos | 44 |
| 4.2.1 | Humedad | 45 |
| 4.2.2 | pH | 47 |
| 4.2.3 | Materia orgánica | 49 |
| 4.2.4 | Nitrógeno | 49 |
| 4.2.5 | Fósforo | 49 |
| 4.2.6 | Textura | 49 |
| 4.3 | Identificación de microorganismos | 49 |
| 5 | CONCLUSIONES | 61 |
| 6 | RECOMENDACIONES | 62 |
| | BIBLIOGRAFIA | 63 |
| | ANEXO 1 | 69 |

LISTA DE TABLAS

| | | Pág. |
|----------------|---|-------------|
| Tabla 1 | Correlaciones entre las variables microbiológicas, físicas y químicas evaluadas en el suelo | 39 |
| Tabla 2 | Resultados de parámetros físicos y químicos evaluados en el suelo | 46 |
| Tabla 3 | Resultados de la identificación taxonómica de hongos provenientes de muestras de suelo con dos tipos de condiciones (con y sin plaguicidas) | 50 |
| Tabla 4 | Prueba de homogeneidad de varianza | 69 |

LISTA DE GRAFICAS

| | | Pág. |
|------------------|--|-------------|
| Gráfica 1 | Ubicación en campo de los tratamientos con y sin el fungicida | 30 |
| Gráfica 2 | Flujograma de la metodología | 30 |
| Gráfica 3 | Población de bacterias presentes en un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb | 37 |
| Gráfica 4 | Población de actinomicetos presentes en un suelo con y sin el fungicida cymoxanil +mancozeb | 39 |
| Gráfica 5 | Población de mohos y levaduras presentes en un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb | 40 |
| Gráfica 6 | Diagrama de caja (población de mohos y levaduras presentes en el suelo evaluado, con y sin aplicación del fungicida) | 43 |
| Gráfica 7 | Humedad de campo de un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb | 47 |
| Gráfica 8 | Humedad higroscópica de un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb | 47 |
| Gráfica 9 | pH de un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb | 48 |

LISTA DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|-------------|
| Figura 1A <i>Chaetomium</i> sp., Morfología de la colonia | 51 |
| Figura 1B <i>Chaetomium</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 51 |
| Figura 2A <i>Trichoderma</i> sp., Morfología de la colonia | 52 |
| Figura 2B <i>Trichoderma</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 52 |
| Figura 3A <i>Penicillium</i> sp., Morfología de la colonia | 53 |
| Figura 3B <i>Penicillium</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 53 |
| Figura 4A <i>Cunninghamella</i> sp., Morfología de la colonia | 54 |
| Figura 4B <i>Cunninghamella</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 54 |
| Figura 4C <i>Cunninghamella</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 54 |
| Figura 5A <i>Paecilomyces</i> sp., Morfología de la colonia | 55 |
| Figura 5B <i>Paecilomyces</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 55 |
| Figura 6A <i>Penicillium</i> sp., Morfología de la colonia | 56 |
| Figura 6B <i>Penicillium</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 56 |
| Figura 7A <i>Verticillium</i> sp., Morfología de la colonia | 57 |
| Figura 7B <i>Verticillium</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 57 |
| Figura 8A <i>Graphium</i> sp., Morfología de la colonia | 58 |
| Figura 8B <i>Graphium</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 58 |
| Figura 9A <i>Cephalosporium</i> sp., Morfología de la colonia | 59 |
| Figura 9B <i>Cephalosporium</i> sp., Morfología microscópica (40X) | 59 |

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto del fungicida Curzate (Cymoxanil 8%, Mancozeb 64%) sobre algunas poblaciones de microorganismos y algunas propiedades físicas químicas de un suelo cultivado con plantas de frijol bajo invernadero, en la finca “La Rejoya” de la Universidad del Cauca (Jardín Botánico Edgar Negret) ubicada en el municipio de Popayán. Se realizó un diseño completamente aleatorio con dos tratamientos, uno con aplicación de plaguicida y otro sin aplicación del mismo, con 10 réplicas por tratamiento. Los análisis microbiológicos incluyeron el recuento de actinomicetos, bacterias, mohos y levaduras y la clasificación de mohos y levaduras. Los análisis físicos comprendieron las determinaciones de humedad y textura. Los análisis químicos incluyeron las determinaciones de pH, materia orgánica, nitrógeno y fósforo. Los análisis se realizaron en los Laboratorios de Microbiología y Agroquímica de la Universidad del Cauca. En los resultados obtenidos se detectó una diferencia significativa en la población de mohos y levaduras ($p= 0.002$), indicando que el plaguicida si afectó dicha población. No se observó diferencia significativa en la población de bacterias y actinomicetos y tampoco entre los resultados de los análisis físicos y químicos correspondientes a los dos tratamientos (con y sin plaguicida). Además, se puede inferir que el plaguicida no produjo efecto sobre las características físicas y químicas del suelo ya que la significancia para estos parámetros fue mayor a 0.005.

Palabras claves: Fungicida, Cymoxanil, Mancozeb, Curzate, microorganismos, suelo.

INTRODUCCION

La vida del suelo es muy activa en todos los suelos agrícolas, aun cuando existen diferencias según su constitución y conformación, y especialmente en aquellos cultivados donde se puede verificar una actividad de biomasa microbiana muy intensa a nivel de la rizósfera. Esta gran actividad biológica se traduce entre otras en una serie de inmovilizaciones y liberaciones de productos metabólicos y nutrientes como el fósforo (González, 2005). Además de albergar muchas especies de microorganismos el suelo cumple otras funciones como alimentaria, social o territorial, entre otras.

El suelo es la cubierta superficial de la mayoría de la superficie continental de la Tierra. Es un agregado de minerales no consolidados y de partículas orgánicas producidas por la acción combinada del viento, el agua y los procesos de desintegración orgánica, inorgánica, biológica y actualmente humana (Contreras *et al*, 2003). El suelo es de vital importancia para el desarrollo de los cultivos ya que de éste depende la salud de la planta. Igualmente los microorganismos cumplen otra función que es la de transformar los nutrientes presentes en el suelo a formas asimilables por la planta. De modo que, la cantidad y diversidad de microorganismos, como bacterias, hongos y actinomicetos presentes en el suelo pueden ser determinantes para la absorción de los nutrientes disponibles por parte de la planta.

Para garantizar una agricultura sustentable es importante el monitoreo del suelo a través de variables químicas, físicas y/o biológicas, que reflejen el impacto de las prácticas agrícolas y se convierten en indicadores de sustentabilidad. Se destaca a los parámetros biológicos porque son los más sensibles y por ello se consideran buenos indicadores (Daglio *et al*, 2005). El buen estado del suelo también se ve afectado por el uso de agroquímicos usados para controlar o prevenir diferentes

tipos de plagas. Estas sustancias suelen acumularse en el suelo afectando a los organismos que allí habitan y alteran el ecosistema, convirtiéndose en un problema ambiental. Pero, algunos microorganismos pueden presentar resistencia o incluso tomar los componentes del plaguicida para su beneficio.

El método de control de patógenos más generalizado en la agricultura, especialmente en la lucha contra las enfermedades producidas por hongos, es el químico. Los fungicidas son una de las principales herramientas de producción de los agricultores, lo que se refleja en los grandes volúmenes de agroquímicos comercializados a nivel mundial. Las condiciones bajo las cuales se manipulan estos productos en los países en desarrollo son muy precarias e inaceptables en los países industrializados (Rodríguez y Sanabria, 2005). Esto ha llevado a muchas entidades ambientales y a investigadores a preocuparse por dar solución al problema ambiental y sanitario que se ha generado con el uso de plaguicidas.

La conversión de plaguicidas en el subsuelo no está bien estudiada, y los procesos de degradación suelen ser más lentos que los que se producen en los suelos superficiales. Esto se debe a la presencia de la biomasa de la microflora autóctona, que se nutre de los nutrientes orgánicos e inorgánicos presentes en el ambiente del subsuelo. Las propiedades del subsuelo como la textura condicionan procesos de adsorción de sustancias orgánicas y células microbianas, así también determinan el arreglo espacial de los constituyentes del suelo, la distribución del tamaño de los poros y de los espacios intersticiales, dando como ejemplo que un alto contenido de arcilla se asocia con baja masa microbiana, por lo que representa potenciales reservorios de contaminantes en el suelo. Cuando los plaguicidas alcanzan mayores profundidades en los suelos, es importante tener presente las condiciones y características del sistema acuífero, ya que de estas dependerá la capacidad de contaminación de los plaguicidas sobre las aguas subterráneas (Edmunds, 2007).

Es importante entonces avanzar en el uso de técnicas que permitan cuantificar el daño que causan estas sustancias tanto en el suelo como en la biota, o, si por el contrario pueden llegar a tener un efecto positivo o simplemente neutro sobre ciertos organismos. Por otra parte se debe evaluar el efecto tanto en el suelo como en la planta de un producto químico, como son los plaguicidas, y comprobar si tiene algún efecto sobre microorganismos, animales o el hombre.

Las bacterias, actinomicetos y hongos ocupan una posición única en los ciclos biológicos y son esenciales para el crecimiento de la planta y la fertilidad del suelo. Muchos estudios han sido dirigidos a entender la complejidad de la interacción de los pesticidas con los microorganismos del suelo, pues una parte del plaguicida interactúa con los microorganismos de la rizósfera. Generalmente los herbicidas no tienen efectos adversos sobre la población de bacterias, excepto cuando superan las dosis recomendadas. Se ha encontrado que los actinomicetos y hongos del suelo no son tan susceptibles a los insecticidas y herbicidas como a los fungicidas (Digrak y Ozcelik, 1998). Según Rosero *et al*, 2006, la mayoría de los plaguicidas evaluados mostraron efectos tóxicos en las diferentes concentraciones sobre el microorganismo *Bacillus subtilis*, los más tóxicos fueron los fungicidas, como el manzate, curzate y format, seguidos de los herbicidas y finalmente los insecticidas que no produjeron toxicidad, razón por la cual se escogió para este trabajo el fungicida curzate.

El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto del fungicida Curzate (presentación comercial del Mancozeb 64%, Cymoxanil 8%, ingredientes inertes 28%), sobre la población de bacterias, mohos, levaduras y actinomicetos del suelo cuantificados por métodos tradicionales. Debido a la importancia que el suelo representa para el ecosistema, es importante evaluar el efecto de los productos utilizados en la agricultura para el manejo de plagas en los cultivos de interés comercial y sobre todo aquellos que se relacionan con los productos alimentarios.

1. ANTECEDENTES

Edmunds (2007) evaluó los suelos de Isla de Pascua (27,9°S, 109,27°O), para estimar el posible impacto ambiental de los plaguicidas usados, principalmente de insecticidas y fungicidas de marcas comerciales como Tamarón, Decis, Dimetoato y Bravo. Los plaguicidas considerados de mayor riesgo obtenido fueron Metamidofos (Tamarón), Dimetoato y Clorotalonil. Se observó la presencia de los tres plaguicidas en los suelos, siendo en algunos casos mayor la concentración a los 50 cm. de profundidad lo que implica que los plaguicidas se están movilizándose pudiendo llegar a las capas subterráneas.

Waliszewski *et al*, 2003 compararon los niveles encontrados de plaguicidas organoclorados persistentes (HCB, α,γ HCH, pp'DDE, op'DDT y pp'DDT) en el suelo y en partes de la planta de trigo (tallos y granos), para observar su distribución en la planta originada por el transporte interno y la adhesión externa de vapores o partículas, debida a la contaminación ambiental procedente del uso previo de estos plaguicidas en la protección de cultivos. Se pudo comprobar la existencia de contaminación del ambiente agrícola por los residuos de plaguicidas organoclorados y su migración a través de diversos procesos como volatilización, movilización con partículas del suelo y con el transporte interno ascendente de la planta. Los plaguicidas presentes en el aire son absorbidos por las plantas, mientras que los que se encuentran en el suelo se movilizan mediante el transporte activo dentro de las plantas de trigo, permitiendo su acumulación específica en las semillas. Los análisis indicaron que los granos de trigo pueden contener plaguicidas utilizados para la protección de las plantas, constituyendo una fuente adicional de contaminación para los consumidores.

Digrak y Kazanici (2001) evaluaron el efecto de algunos insecticidas organofosforados sobre la microbiota del suelo, observando que el tratamiento con plaguicida no causó efecto inhibitorio sobre el desarrollo de algunos grupos microbianos. Además, se observó que el suelo con plaguicida contenía microorganismos capaces de metabolizar el insecticida, se aislaron bacterias y se comprobó que eran capaces de usar el plaguicida como fuente de carbono. Según lo reportado por Dass y Murherjee (2000), en un estudio sobre aplicación de plaguicidas en suelo, algunos microorganismos no son sensibles a los insecticidas pues utilizan los nutrientes libres y así incrementan su número; pueden obtener energía y nutrientes para su metabolismo celular degradando los productos o residuos del insecticida. En el trabajo que realizaron encontraron que la población de bacterias, y actinomicetos aumento en el suelo con el plaguicida HCH, los actinomicetos aumentaron con Carbofuran y en general bajó la población de hongos.

Otro trabajo relacionado con degradación se llevó a cabo en plantaciones de banano en el que comprobaron que los microorganismos degradan el plaguicida que se usa para el control de los nematodos en estas plantaciones, el primer proceso de degradación de los nematicidas es por hidrólisis ya sea química, física o microbial. Dicha degradación es lo que previene la contaminación de los suelos y aguas subterráneas. Sin embargo, cuando el proceso es acelerado por la presencia de microorganismos adaptados por previas aplicaciones del mismo producto o similares, la descomposición del producto es tan rápida que su efecto residual se reduce drásticamente, perdiéndose su eficacia en el control (Araya, 2004).

En otra investigación se aislaron e identificaron hongos de muestras de suelo contaminado con pesticidas y suelo no contaminado en inmediaciones de Annaba (Algeria), las especies más frecuentes fueron: *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Absidia corymbifera* y *Rhizopus microsporas var microsporus*; estas no

fueron sensibles al pesticida. En este trabajo se estudió la capacidad de los hongos para eliminar el herbicida encontrándose que *Absidia fusca* y *Botrytis cinerea* pueden ser empleadas eficientemente para propósitos de biorremediación (Bordjiba *et al*, 2001).

Según Kastner *et al*, 1999 algunos microorganismos son capaces de metabolizar hidrocarburos aromáticos policíclicos, algunas bacterias mineralizan estos compuestos y los usan como fuente de carbono y energía. Se encontró que la degradación microbiana sucede por la división del anillo aromático y esos metabolitos se acumulan en los organismos y son detectados en el ambiente.

En Francia, se realizó un estudio sobre la degradación abiótica de algunos pesticidas, entre ellos el cymoxanil, producida por la luz directa del sol. En este estudio se midió el espectro de absorción de los plaguicidas evaluados, con una longitud de onda en un rango entre 240-344 nm. La información obtenida en este trabajo puede ser útil para estimar el destino potencial de los pesticidas en la atmósfera (Feingenbrogel *et al*, 2006). En este mismo país, en un estudio con cymoxanil se empleó la metodología por HPLC (high-performance liquid chromatography) para determinar la sensibilidad del hongo *Botrytis cinerea* al fungicida (Tellier *et al*, 2002).

Es importante conocer el efecto que pueden tener los plaguicidas o cualquier otra clase de sustancias sobre los microorganismos del suelo, específicamente se puede saber como afectan en la población (Antonious, 2003). En Colombia se reportan algunos trabajos sobre plaguicidas. En Mosquera (Cundinamarca) se realizó un trabajo en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), en el cual se hizo medición del fraccionamiento de fósforo. El suelo analizado se obtuvo del piedemonte llanero en Villavicencio (Daza *et al*, 2006). En Cali se realizó un estudio sobre movilidad de dos plaguicidas: imidacloprid y carbofuran, encontrándose que, el carbofuran eluyó más rápido que el

imidacloprid. Estos resultados se obtuvieron en sistemas los cuales están sujetos a los efectos de advección, dispersión y adsorción; por tanto, se concluyó que el imidacloprid es menos móvil que el carbofuran en el tipo de suelo evaluado (Gutiérrez *et al*, 2007).

En Colombia también fue realizado un estudio con el fin de evaluar la distribución de hongos solubilizadores de fosfatos en suelos amazónicos bajo cultivo de Arazá, en parcelas provenientes de dos unidades fisiográficas ubicadas en el Departamento de Guaviare. En los resultados obtenidos se encontró una mayor incidencia de colonización por parte de los hongos en las partículas provenientes del microhábitat rizosférico, resultados que se relacionan con la posible existencia de una mayor proporción de micelio activo en la rizosfera, debido a las condiciones más favorables para el crecimiento y desarrollo de los organismos en este hábitat, en tanto que las condiciones propias del suelo libre de raíces determinan una mayor escasez de elementos nutritivos, pudiendo limitar las fases de mayor actividad metabólica de los hongos (Vera *et al*, 2002).

En el departamento del Cauca hay pocos estudios sobre microbiología de suelo, entre ellos, Bravo *et al* (2004) analizaron restos de plaguicidas en el suelo por métodos químicos, como determinación de materia orgánica, nitrógeno, fósforo. También se realizó un trabajo en el cual se hizo una evaluación de propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo cultivado con chontaduro, encontrándose que hay un serio deterioro de propiedades físicas y químicas del suelo, así como de su nivel de fertilidad, resultados que corresponden con bajos conteos y poca diversidad de microorganismos, con predominio de actinomicetos, todo lo anterior como resultado de la aplicación de altas y repetidas dosis de insecticidas para el control del barrenador del fruto (Bravo *et al*, 2004).

Igualmente, en el Cauca se reporta un trabajo sobre la evaluación de las concentraciones de plaguicidas básicos en aguas superficiales del Río Palo, el

cual recorre grandes zonas agrícolas del departamento del Cauca. En este trabajo se estandarizó una técnica para análisis de aguas; se encontró presencia constante de plaguicidas a lo largo del río y posible flujo de estas sustancias en el agua (Pérez y Erazo, 2001). En otra investigación similar en este mismo departamento fueron objeto de estudio los ríos Cauca, Palo, Paila, Quilichao, la Quebrada y Desbaratado; se estandarizaron algunos pesticidas para su determinación por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Los resultados mostraron a los ríos Cauca y Palo como los más contaminados (Pérez y Sarmiento, 1997).

2. MARCO TEORICO

2.1 IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS DEL SUELO

El suelo es un sistema complejo en donde coexisten en estrecho equilibrio tres fases: Sólida, líquida y gaseosa. El suelo como parte del sistema natural cumple funciones fundamentales de naturaleza biológica, alimentaria, depuradora y de soporte mecánico. Alberga numerosas y diversas especies microbianas, animales y vegetales responsables de la actividad metabólica, esencial para la formación, funcionamiento y fertilidad del mismo (Unigarro *et al*, 2005). Los microorganismos son componentes muy importantes del suelo, constituyen su parte viva y son los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo del suelo. La diversidad de microorganismos que se encuentran en una fracción de suelo cumple funciones determinantes en la transformación de los componentes orgánicos e inorgánicos que se le incorporan. Esto permite comprender su importancia en la nutrición de las plantas al efectuar procesos de transformación hasta elementos que pueden ser asimilados por sus raíces (Delgado, 2005).

La importancia de los microorganismos en ambientes naturales deriva de su cantidad, diversidad y, sobre todo, de su gran espectro de actividades que, en la mayoría de los casos, repercuten en los seres superiores con los cuales comparte un determinado hábitat (Acuña *et al*, 2006). Los microorganismos del suelo, especialmente aquellos que habitan la rizosfera, desarrollan actividades de gran importancia en el crecimiento y nutrición de las plantas. Entre tales acciones cabe destacar la degradación de la materia orgánica, la fijación de nitrógeno, la producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal y la solubilización de elementos minerales, entre otros. Se ha encontrado que es en la rizosfera donde generalmente existe una mayor proporción de microorganismos solubilizadores de

fosfatos, debido a que los exudados radicales y detritos vegetales, proveen el sustrato energético para soportar la intensa actividad microbiológica característica de este microhábitat y para llevar a cabo la solubilización. Los hongos y las bacterias tienen la habilidad de solubilizar estos compuestos y aunque varios mecanismos pueden estar involucrados, el principal de ellos ocurre a través de la producción de ácidos orgánicos. Se asume que estos ácidos solubilizan las formas insolubles de fosfato a una forma utilizable tal como el orto-fosfato, incrementando su disponibilidad potencial para las plantas (Vera *et al*, 2002).

La fertilidad de un suelo se define como su capacidad para proporcionar a las plantas un medio físico, que permita su establecimiento y desarrollo y suministre, en cantidad y forma adecuada, los nutrimentos que necesitan para satisfacer sus necesidades durante toda su existencia. Las propiedades químicas, físicas, biológicas y climáticas que actúan normalmente en interacción, son las que identifican la fertilidad de los suelos. Entre estos factores, quizás los componentes biológicos se han tomado en cuenta para investigación y producción de los cultivos, además hoy se acepta que la actividad de los microorganismos no solo es un factor clave en la fertilidad del suelo, sino que también lo es en la estabilidad y funcionamiento de ecosistemas naturales (Acuña *et al*, 2006).

2.1.1 Bacterias

Un papel importante para las plantas juegan las bacterias benéficas del suelo, ya que al asociarse con ellas les permiten, por una parte, aumentar su crecimiento y desarrollo y, por otra, las protegen contra otros organismos del suelo que causan enfermedades (Hernández *et al*, 2003). Los microorganismos desempeñan funciones de gran importancia en relación con procesos de edafogénesis; ciclos biogeoquímicos de elementos como el carbono, el nitrógeno, oxígeno, el azufre, el fósforo, el hierro y otros metales; fertilidad de las plantas y protección frente a patógenos; degradación de compuestos xenobióticos, etc. (Nogales, 2005).

Algunas de las actividades en las que participan los microorganismos del suelo son: fijación de nitrógeno, degradación de celulosa, incorporación de fósforo a la planta, interacción con otros microorganismos y control biológico. El aprovechamiento de estas actividades sirve para hacer realidad un manejo sostenible sin deteriorar el medio ambiente (Olalde *et al*, 1998).

Las bacterias son extremadamente activas en la descomposición de materia orgánica, no permitiendo la acumulación de humus, mientras que los hongos son descomponedores muy lentos. El humus se forma casi exclusivamente por la acción de hongos y actinomicetos y nunca de bacterias. Las bacterias necesitan una humedad elevada del aire del suelo que debe ser alrededor del 98% y que ocurre con una humedad entre 50 y 75% de la capacidad de retención de agua del suelo. Los hongos, pero en especial los actinomicetos pueden crecer en suelos mas secos (Primavesi, 1982).

2.1.2 Actinomicetos

Son microorganismos unicelulares muy abundantes en los suelos, aguas estancadas, cieno de lagos, se nutren de compuestos orgánicos, son heterótrofos, no son capaces de asimilar el nitrógeno molecular ni producir desnitrificación. Así pues, como fuentes de nitrógeno, utilizan amoníaco, procedente de desaminación de los aminoazúcares, y nitratos, aunque lo habitual es consumir aminoácidos, procedentes de peptonas y proteínas a las cuales degradan previamente, como el resto de las bacterias. Su temperatura óptima reside entre 28-37° C. La situación de sequías, los climas áridos, incluso desérticos limita drásticamente su número de formas activas, pero no les elimina. Los actinomicetos compiten poco en la captura de nutrientes (ácidos orgánicos, azúcares, polisacáridos, lípidos, proteínas e hidrocarburos alifáticos). Si no los hay, esporulan a la espera de una situación mejor (González, 2005).

La población de actinomicetos tienen una actividad mineralizante que dependen de la concentración de la materia orgánica, del pH, la humedad, la temperatura y el cultivo vegetal sembrado en un suelo específico. Los actinomicetos (Ac) no toleran el pH ácido, su densidad es inversa a la concentración del ión hidrógeno; en suelo ácido la proporción de Ac es menor al 1% del total de la población microbiana, aunque existen géneros resistentes a la acidez ; el pH límite de crecimiento de los Ac es de 5.0 ello tiene aplicación práctica en el control de ciertas enfermedades vegetales causadas por éste grupo. El enclavamiento tiene un efecto benéfico sobre los Ac, una condición neutra o alcalina estimula su crecimiento, mientras que el contenido de humedad de 85-100% o inundación los inhibe porque son aeróbicos. En general, los actinomicetos son fundamentales en la mineralización de materia orgánica que hongos y bacterias no usan, como antagonistas microbianos regulan la composición de la comunidad en el ecosistema del suelo. Además se asocian con raíces vegetales para fijación del N, este grupo es conocido también por su capacidad de producir antibióticos (Sánchez *et al*, 2007)

2.1.3 Mohos y levaduras

Son un grupo muy amplio y diverso, constituye un reino que incluye desde organismos unicelulares como las levaduras hasta organismos macroscópicos como las setas. Los hongos son absorptivos, es decir, toman los nutrientes del medio igual que las bacterias, la mayoría son saprófitos obteniendo los nutrientes por descomposición de la materia orgánica, por esta razón son muy importantes en el suelo y en general para el medio ambiente. Los hongos sobreviven y se desarrollan en casi todos los ambientes, pueden crecer a muy bajas temperaturas (menores que aquellas que permiten el crecimiento bacteriano), pero no toleran temperaturas muy elevadas como las que toleran las bacterias; los hongos pueden crecer con poca concentración de nutrientes y pueden descomponer casi cualquier material orgánico. Su importancia radica en que convierten los materiales de

origen vegetal y otros residuos orgánicos en un suelo fértil y desmenuzable (Ingraham et al, 1998).

Según Primavesi 1982, los hongos son mas frecuentes en suelos vírgenes que en los cultivados, donde normalmente predominan las bacterias. Son mas frecuentes en no leguminosas por ser ávidos de azúcares y no apreciar mucho los aminoácidos excretados por estos vegetales. Sobreviven tanto en plantas arbóreas como en herbáceas, perennes o anuales.

La rizósfera vegetal esta densamente poblada por hongos y bacterias, aprovechando las excreciones radiculares, que varían de azucares y aminoácidos, ácidos orgánicos y nucleótidos hasta enzimas, vitaminas y sustancias de crecimiento e inhibición. Con la disminución del pH aumenta la flora fúngica, existe así un efecto altamente selectivo sobre los microorganismos y en particular los hongos. Los hongos movilizan nutrientes minerales hacia las plantas, aumentan la posibilidad de retirar agua del suelo, fijan nitrógeno y defienden la rizósfera por medio de antibióticos, siendo las micorrizas los mas eficientes (Primavesi, 1982).

La función básica de los hongos es la descomposición y mineralización de los residuos orgánicos frescos o recién incorporados al suelo, por esto se les conoce como descomponedores primarios que mediante su metabolismo libera gran cantidad de enzimas capaces de destruir compuestos de estructuras complejas, para así obtener su fuente energética y alimenticia. Además liberan al medio proteínas, reguladores de crecimiento, metabolitos y algunos nutrientes. Los beneficios de los hongos para los cultivos se relacionan con un incremento en la cantidad de raíces, una protección al ataque de fitopatógenos y un aporte importante de elementos básicos para el desarrollo y producción (Acuña *et al*, 2006).

2.2 PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son compuestos químicos que sirven para combatir los parásitos de los cultivos, del ganado, de los animales domésticos y del hombre y su ambiente (Sánchez *et al*, 1984). Los herbicidas, insecticidas, fungicidas, policlorobifenilos, etc. pueden acumularse en el ambiente y, adicionalmente, pueden ser transportados a través del suelo llegando a contaminar aguas subterráneas, lo que genera un alto riesgo al ambiente y a la salud del ser humano (Gutiérrez *et al*, 2007). Los plaguicidas pueden penetrar en las plantas y convertirse en otra fuente de contaminación, avanzando en la cadena alimenticia. Existen diferentes vías de entrada de los plaguicidas volátiles a las plantas, estas vías incluyen su penetración por las raíces y su traslocación en el xilema, por adsorción directa de vapores por las hojas o el depósito en su superficie. Además, las partículas en suspensión del suelo contaminado arrastradas por el viento y el agua son capturadas por las plantas (Waliskei *et al*, 2003).

Los pesticidas agrícolas son un grupo de sustancias potencialmente tóxicas que son introducidas deliberadamente en el ambiente. Los efectos de estas sustancias en los microorganismos han sido evaluados mediante diferentes pruebas de laboratorio estudiando el efecto en la actividad microbiana, encontrando que pueden darse cambios drásticos en la estructura de la comunidad de microorganismos lo cual afecta las funciones del ecosistema. En algunos casos los microorganismos pueden aumentar su número debido a la alta exposición a los pesticidas y encubriendo así el efecto negativo que estas sustancias causan en los microorganismos y el medio ambiente (Widenfalk *et al*, 2007).

2.2.1 Fungicida Curzate

El Curzate es un fungicida anti-mildiu perteneciente a la familia química de las cianoacetamidas. Fue descubierta por DuPont en el año 1972. Curzate® posee un

modo de acción multimetabólico ("multi-diana", "multisite"), distinto al de cualquier otro fungicida comercializado en la actualidad.

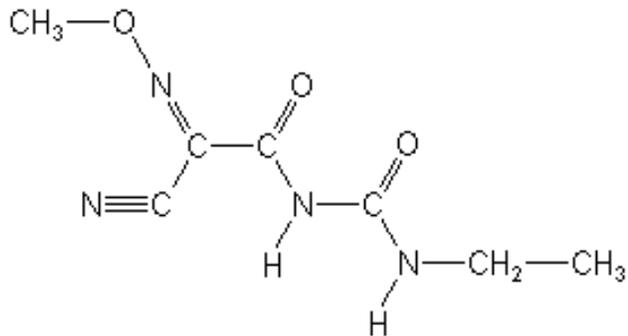
Su formulación comercial es: Cymoxanil: 1-[2-ciano-2-(metoximino) acetil]3-etilurea) y Mancozeb (producto de coordinación del ion zinc con el etilenobisdio carbamato de manganeso) con ingredientes activos inertes.

El Mancozeb es un fungicida protector que amplía el espectro de acción sobre diversos hongos y, por ser un fungicida de diferente base química y modo de acción multisítica (actúa en diferentes sitios de acción en los hongos que controla), también contribuye a evitar la aparición de resistencia. (http://www.basf.cl/asp-local/agro_prod_fichaweb.asp?prod_id=6). El mancozeb forma una capa protectora sobre la superficie del follaje de la hoja, impidiendo la germinación de esporas, lo cual detiene el crecimiento del tubo germinativo y la formación de los apresorios. El cymoxanil penetra a la hojas; se desplaza en el interior de la planta, inhibiendo la formación de los esporangios, reduciendo la producción de zoosporas y afectando la viabilidad de éstas. (http://www.bravoag.com.mx/productos_descripcion.php?id=47).

Con base en los estudios realizados hasta la fecha se ha podido determinar que Curzate® (nombre comercial del cymoxanil) afecta a varios procesos biosintéticos aunque todavía no se conoce exactamente su modo de acción bioquímico y sus dianas específicas de acción. Inhibe diversos procesos metabólicos en las células de los hongos sensibles: síntesis de ADN (núcleo) y de ARN (citoplasma), síntesis de aminoácidos y de lípidos, respiración celular (mitocondrias) y permeabilidad de la membrana celular o pared celular (Márquez, 1999). Algunos de los estudios sobre el cymoxanil están relacionados con la sensibilidad de algunos hongos al fungicida (Tellier *et al*, 2002), o el posible destino de estos fungicidas en la atmósfera (Feingenbrogel *et al*, 2006), así mismo se estudia la toxicidad de éste y otros fungicidas y sus efectos sobre los microorganismos y el ambiente acuático,

encontrándose que causa inhibición del crecimiento y deterioro de algunas especies en varios ambientes (Guida *et al*, 2008).

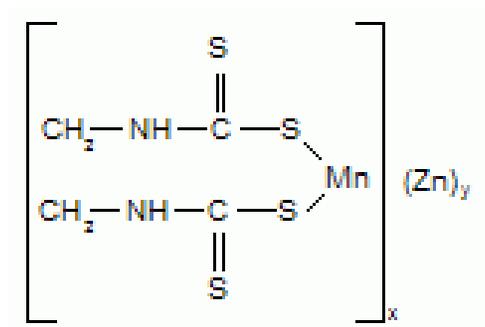
Formula estructural del Cymoxanil



(www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/specs/docs/paf/new/cymoxa05.pdf)

Fórmula química C₇H₁₀N₄O₃

Formula estructural del Mancozeb



(<http://www.sinoharvest.com/products/Mancozeb.shtml>)

Fórmula química (C₄H₆MnN₂S₄)_x(Zn)_y

2.3 PARAMETROS FISICOS Y QUIMICOS DEL SUELO

La determinación de las propiedades físicas de un suelo es muy importante porque mediante estas se puede hacer una descripción del suelo tanto en el sentido de su formación como en cuanto a sus componentes químicos (Bravo y Giraldo, 2003).

2.3.1 Humedad

El término humedad del suelo se emplea para referirse al agua retenida por él, y así distinguirla del agua subterránea propiamente dicha. El componente líquido en el suelo es generalmente el agua, que, al atravesar la superficie del terreno se distribuye por él, quedando sometida a varias fuerzas de cuya intensidad depende el mayor o menor grado de fijación al material sólido. Las plantas de cultivo necesitan cierta cantidad de agua para crecer y madurar debidamente; esta necesidad debe satisfacerse absorbiendo la humedad que existe en el suelo por las raíces. Pero no debe suministrarse cantidad de excesiva porque las plantas no podrían tomar el oxígeno para su desarrollo (Bravo y Giraldo, 2003). La humedad del suelo es uno de los factores determinantes que regula su actividad biológica. Los microorganismos toleran ciertos valores de humedad dependiendo de la especie, con una humedad del 20% aparecen los actinomicetos, mientras que los hongos pueden sobrevivir con un 70% de humedad (Tsai *et al*, 1992)

2.3.2 El pH

El pH del suelo nos expresa la acidez o alcalinidad del mismo, es decir, la concentración de iones H^+ disociados en la "solución suelo". La neutralidad es la condición óptima para el desarrollo de la mayoría de los cultivos y para la asimilación de la mayoría de los nutrientes por parte de éstos (Contreras *et al*, 2003). Los suelos con pH entre 5.6 y 7.3 son considerados los apropiados para los

cultivos, por ser dentro de este rango que los elementos nutritivos se presentan con mayor disponibilidad para las plantas (Orellana, 2005).

El pH regula y dispone la actividad física del suelo; el movimiento hacia arriba y hacia debajo de los componentes del suelo depende del pH, éste regula la actividad biológica del suelo, condicionando la fertilidad de éste, o la posibilidad de desarrollo de una planta o de una población microbiana. Además, ya que muchos nutrientes tiene la máxima solubilidad a pH entre 6 y 7, decreciendo por encima y por debajo de este rango, este es un indicativo relativo de la disponibilidad de los nutrientes para la planta (Bravo y Giraldo, 2003).

El pH es una variable que puede determinar desde el punto de vista biológico el tipo de organismo que se desarrolle sobre un suelo, debido a su significativa influencia sobre la disponibilidad de nutrientes. Las bacterias, hongos y actinomicetos son grupos de microorganismos cuyo predominio en el suelo depende de las condiciones locales, especialmente del pH y el contenido de humedad (Pereira *et al*, 2007). Los rangos de pH útiles para el crecimiento de bacterias, hongos o actinomicetos varia dependiendo de la especie de microorganismo, según lo reportado por Pereira *et al*, (2007) por ejemplo, para hongos, el mejor comportamiento que presentan se produce en medios nutritivos cuyo pH es similar a aquel registrado en los suelos en donde éstos estaban creciendo en forma natural, preferiblemente cercanos a la neutralidad o levemente ácidos. Según Tsai *et al*, 1992 las bacterias presentan crecimiento satisfactorio con valores de pH entre 6.0 hasta 9.0, mientras que para los hongos los valores varían entre 2.0 hasta 8.0, y los actinomicetos aparecen con valores entre 4.6 y 9.5, muchos de ellos crecen en valores de pH inferiores a 5.5.

2.3.3 Materia orgánica

La materia orgánica del suelo (MOS) es un término usado para representar los constituyentes orgánicos del suelo, incluyendo plantas sin degradar y tejidos animales, sus productos de descomposición parcial, y la biomasa del suelo. De allí que este término incluye: moléculas orgánicas identificables de alto peso molecular tales como polisacáridos y proteínas; sustancias más simples como azúcares, aminoácidos y otras moléculas pequeñas, y también sustancias húmicas (Nigoul, 2005). El carbono en forma orgánica proviene del humus del suelo que es la fracción orgánica descompuesta. Por esto el contenido de carbono de un suelo es un indicativo del porcentaje de materia orgánica de este. La materia orgánica es uno de los aspectos más importantes del suelo, posee características de intercambio catiónico, al descomponerse da lugar a radicales ácidos y fenólicos que como tales pueden ser neutralizados por cationes. El manejo de la materia orgánica del suelo es un factor clave para el mejoramiento de la fertilidad del suelo y el mantenimiento de su productividad. La materia orgánica tiene numerosas funciones: contribuye a la productividad del suelo, actúa como depósito de nutrientes, aumenta la capacidad de intercambio de cationes del suelo y reduce los efectos de la compactación (Bravo y Giraldo, 2003). Y es la principal fuente de energía y nutrientes necesarios para el desarrollo de todos los organismos del suelo

2.3.4 Nitrógeno

El nitrógeno es el gas más abundante en el aire (78%), pero ésta es una forma química casi inerte y no asimilable para la inmensa mayoría de los seres vivos. Los microorganismos son los encargados de fijar el nitrógeno en las plantas, algunos los hacen en asociación con la planta, como las bacterias *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* y *Azorhizobium* (Valencia y Peña, 2001). El nitrógeno del suelo se encuentra presente como diferentes compuestos químicos, pero la mayor parte en

forma de compuestos orgánicos (materia orgánica del suelo). Únicamente del 5 al 10% del nitrógeno total se encuentra como formas inorgánicas: Amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-). El nitrito y el nitrato se encuentran en la solución del suelo, mientras que el amonio (catión) se encuentra como intercambiable o fijado a la estructura de algunos minerales. El nitrógeno, bajo las diferentes formas en que se encuentra en el suelo, es el elemento más susceptible de transformación por acción de los microorganismos. Estas transformaciones ocurren simultáneamente y en diverso sentido, formando el ciclo del nitrógeno en el cual hay aportes o pérdidas al suelo, o cambio de un estado a otro. La nitrificación es un proceso bacterial y aeróbico (Delgado, 2005); el amoníaco del suelo puede proceder de la amonificación o tener origen no biológico. El fenómeno de su oxidación es conocido como la nitrificación, proceso biológico en el que intervienen microorganismos heterótrofos, la mayoría pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, dentro de las bacterias. Actúan también ciertos actinomicetos (*Nocardia*, *Streptomyces*) y hongos (*Aspergillus*, *Penicillium*).

2.3.5 Fósforo

El fósforo después del nitrógeno, es el nutriente inorgánico más requerido por plantas y microorganismos y además, en el suelo es el factor limitante del desarrollo vegetal a pesar de ser abundante tanto en formas inorgánicas como orgánicas. El fósforo juega un papel fundamental en la vida de las plantas, es constituyente de ácidos nucleicos, enzimas, vitaminas, fosfolípidos, fitina y además es indispensable en procesos donde hay transformaciones de energía. Las plantas deben absorberlo del suelo, donde se encuentra en muy baja concentración, normalmente en niveles que varían entre 5 y 30 mg kg^{-1} . Estos índices bajos del nutriente se deben a que el fósforo soluble reacciona con iones como el calcio, el hierro o el aluminio que provocan su precipitación o fijación, disminuyendo su disponibilidad para los vegetales. Se considera, que la solubilización de distintas rocas fosfatadas y de otras fuentes de fósforo inorgánico

por los microorganismos del suelo es una alternativa fundamental para incrementar la cantidad de nutriente disponible para las plantas (Fernández *et al*, 2005).

Las fuentes de fósforo son muy escasas; forma compuestos insolubles con muchos cationes, por lo que la cantidad de fósforo en la solución del suelo es muy pequeña. Las plantas aparentemente absorben el fósforo solo de la solución del suelo y se ha demostrado que ésta debe ser renovada varias veces al día para nutrir la planta, lo cual se lleva a cabo por procesos de disolución y difusión. Los factores involucrados en esta renovación son: la cantidad de fósforo que puede ser solubilizada, el grado de solubilidad y la velocidad de difusión desde la superficie sólida a la superficie de la raíz de la planta (Bravo y Giraldo, 2003). Algunos microorganismos como los hongos son importantes para la captación de fósforo del suelo, este elemento tiene especial importancia para el crecimiento de las plantas, además no existe otro nutriente que pueda sustituirlo (Molina *et al*, 2005). El fósforo es un elemento químicamente muy reactivo en la naturaleza y se lo encuentra en más de 170 compuestos minerales; éstos varían ampliamente en su solubilidad, ya que naturalmente evolucionan en el tiempo desde formas químicas moderadamente solubles a especies muy poco solubles. En consecuencia, es el menos móvil y con más problemas de biodisponibilidad de todos los macronutrientes. Esta característica le da una alta resistencia a ser lavado en la mayoría de los suelos, pero al mismo tiempo causa frecuentes deficiencias nutricionales en la producción agrícola (Silva *et al*, 2006).

En la rizósfera, los microorganismos pueden desempeñar diversas e importantes funciones como por ejemplo: la fijación simbiótica de N₂ (*Rhizobium sp.* y *Bradyrhizobium sp.*), producción de sustancias de crecimiento (bacterias promotoras del crecimiento vegetal ó PGPR), fijación de N₂ por bacterias de vida libre (*Azotobacter sp.*), solubilización de fosfatos por hongos y bacterias (Ej.: *Bacillus sp.* y *Aspergillus sp.*) y favorecer la captación del fósforo del suelo

(hongos formadores de micorrizas) favoreciendo la nutrición de la planta, entre muchas más. Los microorganismos pueden relacionarse entre sí, dando lugar, en muchos casos a interacciones sinérgicas que favorecen la nutrición de la planta e incrementan su producción. Un ejemplo de este sinergismo lo constituye la interacción entre las micorrizas y los microorganismos solubilizadores de fosfato (Toro, 1996).

2.3.6 Textura

La textura de un suelo informa sobre la proporción en la que se hallan las partículas elementales que lo constituyen. Estas partículas se encuentran reunidas formando agregados o terrones que hay que deshacer. Las partículas elementales del suelo se clasifican con arreglo a su tamaño en: arena, limo y arcilla. Así pues esta clasificación se basa en las dimensiones de las partículas y no en su composición química (Contreras *et al*, 2003). La textura está dada por las porciones finas que contiene el suelo al deshacer un terrón. Existen tres clases de partículas: arena, limo y arcilla, por ejemplo los suelos franco arenosos son suelos con mayor proporción de arena. La textura tiene importancia en la relación entre el suelo y la planta. El suelo arcilloso es poco permeable y retiene en mayor proporción el agua que un suelo arenoso, tiene mayor fertilidad potencial, es decir que puede proporcionarle a la planta más cantidad de nutrientes. La forma en que esto ocurre está dada por las pequeñas partículas de arcilla, que tienen la propiedad de cargarse de mínimas cargas eléctricas negativas, y los nutrientes (elementos químicos) con cargas positivas quedan retenidos en las partículas de arcilla, de esta forma los pelos absorbentes de las raíces de las plantas tienen a su disposición estos elementos vitales para su desarrollo. Esta retención de agua no siempre es beneficiosa para las plantas, porque los pelos absorbentes respiran profundamente, y al encharcarse el suelo puede producir amarillamientos y hasta la muerte del vegetal (<http://www.geocities.com/RainForest/4754/suelos.htm#EL%20SUELO>).

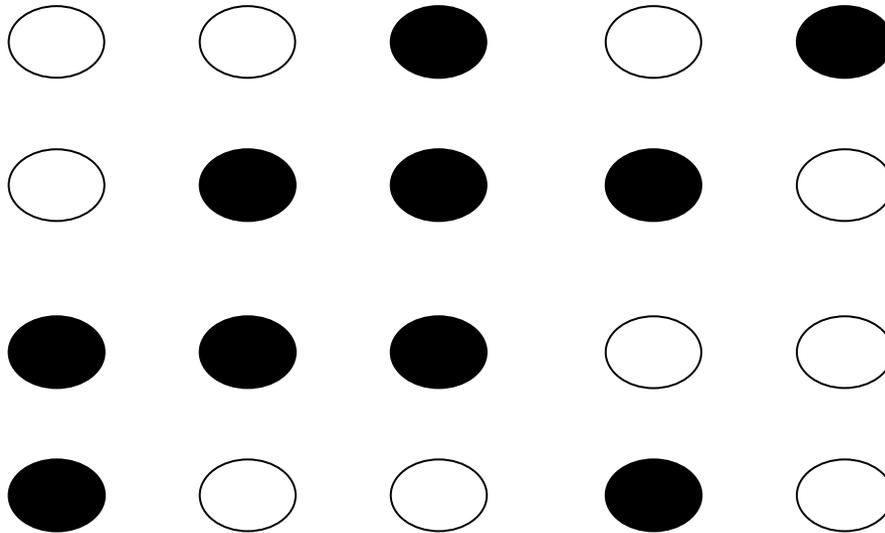
3. METODOLOGIA

3.1 PREPARACION DEL SUELO Y SITIO DE MUESTREO

Este estudio se realizó en condiciones de invernadero en el Jardín Botánico de la Universidad del Cauca (finca La Rejoja), en el municipio de Popayán a 1,738 msnm, con una temperatura media de 19°C. Se realizaron dos tratamientos consistentes en plantas de frijol cultivadas en invernadero sin aplicación de fungicida Cymoxanil, y plantas de frijol cultivadas en invernadero con aplicación del fungicida. Cada tratamiento con 10 repeticiones para un total de 20 unidades experimentales.

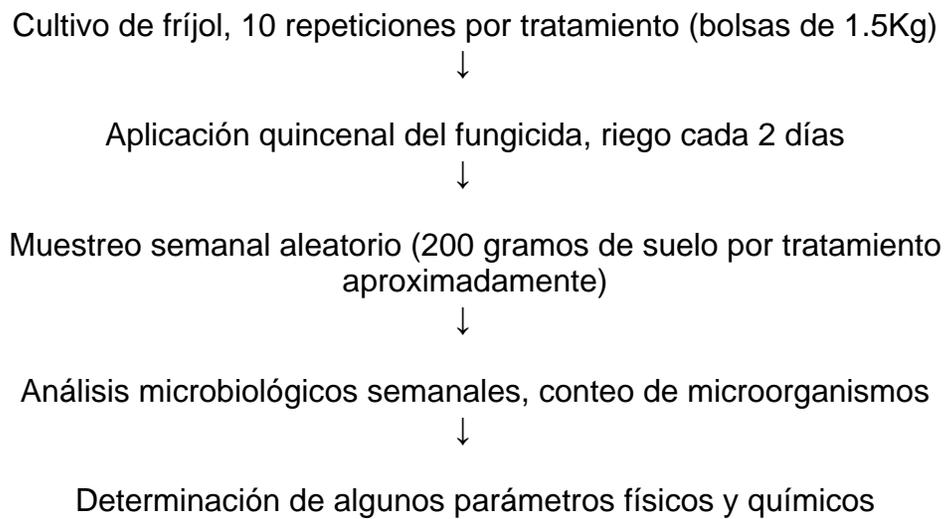
Se sembraron de dos a tres semillas de frijol variedad CALIMA por cada bolsa y se implementaron las labores culturales propias del frijol. Se aplicó un fungicida Curzate (Mancozeb 64%, Cymoxanil 8%, ingredientes inertes 28%) a razón de 1.5 gramos por litro, como control preventivo de hongos, este se aplicó cada 2 semanas a la mitad de las plantas, previamente seleccionadas para el tratamiento. Se sembraron 20 bolsas, de las cuales se usaron 10 como control y 10 para la aplicación quincenal del plaguicida, aplicando aproximadamente 2 ml (mililitros) del fungicida a cada planta en cada aplicación; se distribuyeron aleatoriamente, y la frecuencia de muestreo fue semanal, tomando muestras de cada bolsa para finalmente mezclar el suelo y obtener dos muestras, del suelo con y sin plaguicida. Las muestras se transportaron en bolsas plásticas para ser inmediatamente refrigeradas hasta su análisis.

Gráfica 1: Ubicación en campo de los tratamientos con y sin el fungicida



Con el fungicida ●
Sin el fungicida ○

Gráfica 2: Flujograma de la metodología



3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Biología de la Universidad del Cauca. Se realizaron recuentos para bacterias, mohos y levaduras y actinomicetos, por el método de recuento estándar en placa, para esto se siguió la metodología recomendada por Motta *et al*, 1990.

3.2.1 Preparación de la muestra

Se determinó la humedad, para poder calcular los gramos necesarios para ajustar el valor a 10 g. Luego se prepararon las diluciones seriadas con 10 gramos de suelo sumando el 10% del porcentaje de humedad del suelo en 90 ml de agua peptonada para obtener la primera dilución (Motta *et al*, 1990).

3.2.2 Preparación de las diluciones

Inicialmente se estableció el porcentaje de humedad de la muestra (Bravo y Giraldo, 2003), luego se tomaron 10g de muestra de suelo, se llevaron a 90ml de agua peptonada estéril, esta es la dilución 10^{-1} , de allí se tomó 1ml y se llevó a un tubo con 9ml de agua peptonada estéril, esta es la dilución 10^{-2} . Con el mismo procedimiento se prepararon todas las diluciones, hasta 10^{-6}

3.2.3 Recuento de bacterias

Se utilizó el medio de cultivo agar extracto de suelo modificado, (suelo: agua en relación 1:2). Para la preparación del extracto de suelo se adicionaron 500g de suelo en 1000 ml de agua, se dejó reposar y se filtró la mezcla, ajustando el pH a 7.0, posteriormente se adicionó 15 g/L de agar-agar y se esterilizó a 121 °C y 15 lps. Después de preparar el medio de cultivo se sirvió en cajas de petri. Se inocularon las cajas de petri con 0.1ml de las diluciones y se incubaron a 28°C por 48 horas, Luego de la incubación se procedió a contar las cajas con recuento entre 30 a 300 colonias de microorganismos. (Motta *et al*, 1990).

3.2.4 Recuento de mohos y levaduras

Se preparó el medio de cultivo, agar glucosa con cloranfenicol (Sharlau) a razón de 40 g/L. Se inocularon las cajas de petri con 0.1 ml de cada dilución, se incubaron a 28°C por 6 a 7 días, posteriormente se realizó el conteo de los hongos (Motta *et al*, 1990).

3.2.5 Recuento de actinomicetos

Se preparó el medio de cultivo para Actinomicetos con los siguientes componentes: glicerol 20.0 g/L, arginina 2.5 g/L, NaCl 1.0 g/L, CaCO₃ 0.1 g/L, FeSO₄ 0.1 g/L, MgSO₄ 0.1 g/L y agar base 20 g/L, se llevaron a 1 litro de agua destilada, se ajustó el pH a 7. Se esterilizó en la autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 20 minutos. Después de solidificado el medio en las cajas se inocularon con 0.1ml de las diluciones y se incubó a 28°C por 6 a 7 días (Motta *et al*, 1990).

3.2.6 IDENTIFICACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS

La identificación fue realizada en el Laboratorio de Microbiología Industrial y Ambiental de la Facultad de Ciencias de la Universidad del Valle, esta identificación fue realizada por Olga Lucia Velásquez Escobar y Neyla Benitez de la Universidad del Valle. La identificación taxonómica se realizó con muestras de hongos sembrados en cajas de petri provenientes del suelo con los dos tratamientos: con plaguicida y sin el fungicida. Se utilizaron las técnicas de microcultivo y la técnica de la cinta adhesiva (tinción con azul de lactofenol).

3.2.6.1 Técnica de microcultivo

Se situó un bloque de 1cm² de Agar-Papa-Dextrosa (PDA) sobre la superficie de un portaobjetos. Luego se inoculó cada ángulo del bloque con una pequeña porción de la colonia del hongo usando un asa de argolla. Por último se calentó suavemente un cubreobjetos pasándolo rápidamente por la llama de un mechero

y se ubicó de inmediato sobre la superficie del agar inoculado para proporcionar un sellado firme con el agar. Esta preparación se situó en una caja de petri sobre varillas de vidrio para elevarlo por encima de un disco de papel filtro humedecido, colocado sobre el fondo de la caja. Las cajas se taparon y se incubaron a temperatura ambiente durante una a dos semanas en las cuales se realizaron observaciones periódicas con el fin de determinar la etapa de esporulación y de determinar las estructuras reproductivas para la identificación.

3.2.6.2 Técnica de la cinta adhesiva (Tinción con azul de lactofenol)

Se dispuso una gota de azul de lactofenol en el centro del portaobjetos. Se tomaron aproximadamente 8 cm de cinta adhesiva transparente entre los dedos pulgar e índice con el adhesivo hacia fuera, se presionó suavemente el lado adhesivo de la cinta sobre la superficie del hongo. Se colocó la cinta con el lado adhesivo hacia abajo y se adhirió sobre el portaobjetos con el colorante. Se realizaron observaciones en objetivo de 10X y 40X.

3.3 ANÁLISIS FÍSICOS DEL SUELO

Se realizaron análisis físicos y químicos, de acuerdo a la metodología estandarizada en el Laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca, (Bravo y Giraldo, 2003).

3.3.1 Humedad

Se pesaron 10g de suelo en una cápsula previamente tarada; se introdujo destapada en la estufa a 105°C durante 24 horas. Se dejó enfriar en un desecador y se pesó nuevamente. La humedad se calculó por diferencia de peso del suelo húmedo con respecto al suelo seco. También se determinó la humedad higroscópica mediante el mismo procedimiento pero con el suelo previamente seco a temperatura ambiente (Bravo y Giraldo, 2003).

3.3.2 Textura

Se determinó mediante el método de Bouyoucos que consiste en determinar la cantidad de sólidos en suspensión por medio de un hidrómetro (Bravo y Giraldo, 2003). Para la determinación de textura la profundidad del centro de flotación del hidrómetro varía con la densidad de la suspensión y también con la textura. Después de 40 segundos, todas las partículas mayores de 50 micras sedimentarán de tal manera que no tendrán influencia sobre el hidrómetro. Las determinaciones realizadas una hora después, corresponden a partículas mayores de 5 micras y a las dos horas a partículas menores de 2 micras. El método se fundamenta en la ley de Stokes que dice que la velocidad de caída de las partículas de diferente tamaño en un medio líquido es directamente proporcional al cuadrado del radio de la partícula.

3.4 ANÁLISIS QUÍMICOS DEL SUELO

3.4.1 pH

Se determinó mediante el método potenciométrico, en una suspensión suelo: agua, en relación 1:2.5 utilizando un pH – metro METROHM E-744 con electrodo combinado de vidrio.

3.4.2 Materia orgánica

Se realizó mediante el método de Walckley – Black, el cual consiste en oxidar el carbono orgánico presente en el suelo con un oxidante en medio ácido, utilizando como oxidante $K_2Cr_2O_7$ 1N y como medio ácido sulfúrico concentrado (Bravo y Giraldo, 2005).

3.4.3 Determinación de nitrógeno

Se realizó mediante el método de Kjeldahl, que consta de tres etapas: oxidación de la muestra, descomposición del sulfato ácido de amonio y titulación del borato de amonio. (Bravo y Giraldo, 2003).

3.4.4 Determinación de fósforo

Se procedió a su determinación por el método colorimétrico, previa extracción con una solución apropiada de acuerdo al valor del pH del suelo, formando un complejo del fósforo con ácido molibdico que absorbe a 660nm. Para suelos básicos, con pH mayor a 7.0 se usó el método de Olsen y para suelos ácidos con pH menor a 7.0 se usó Bray II (Bravo y Giraldo, 2003).

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un diseño experimental completamente aleatorio con dos tratamientos: **Tratamiento 1:** cultivo de frijol con plaguicida y **Tratamiento 2** cultivo de frijol sin plaguicida. Después de realizados los cálculos correspondientes a los análisis microbiológicos y físicos y químicos se procedió a introducir los datos en el programa SPSS versión 11.5. Se aplicaron pruebas paramétricas, se aplicó la prueba t para muestras independientes. También se realizó la correlación de Pearson entre las poblaciones de microorganismos y los análisis físicos y químicos y entre los microorganismos entre sí.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

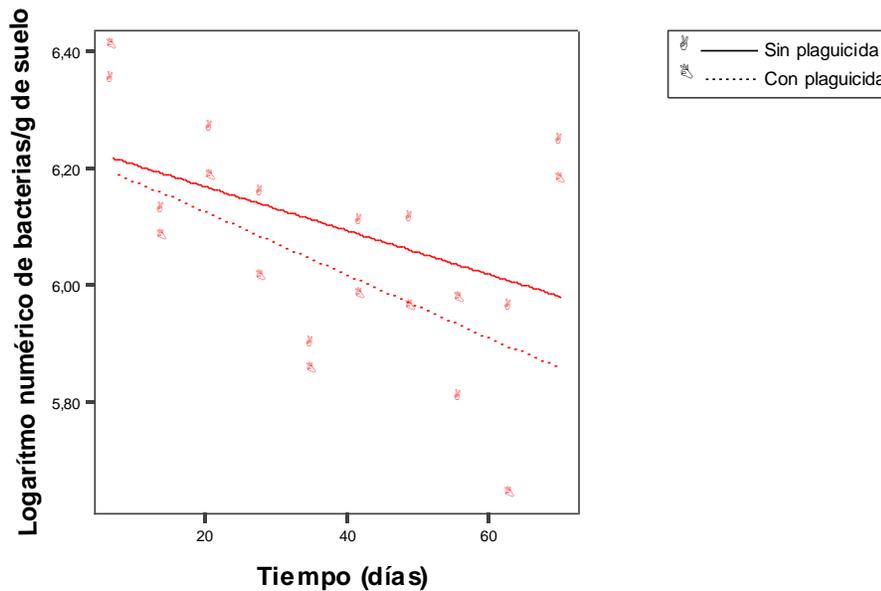
4.1 Análisis Microbiológicos.

4.1.1. Conteo de población de microorganismos

En las graficas 3, 4 y 5 se muestran los resultados del recuento de bacterias, actinomicetos, mohos y levaduras respectivamente, obtenidos en las muestras de suelo con y sin fungicida. Estos datos se presentan en forma logarítmica; así se realizó el análisis estadístico y las gráficas.

4.1.1.1 Conteo de bacterias: En la gráfica 3 se puede observar que la población de bacterias en el suelo con plaguicida y sin plaguicida es alta en la primera semana, 6.41 log. (que equivale a 255×10^4 UFC/g de suelo) y 6.35 log. (que equivale a 244×10^4 UFC/g de suelo) respectivamente. A medida que va transcurriendo el tiempo, esta población va disminuyendo en ambos tratamientos hasta llegar a 5.64 log. (que equivale a 44×10^4 UFC/g de suelo) en este suelo con plaguicida y 5.96 log. (que equivale a 91×10^4 UFC/g de suelo) en el suelo sin plaguicida en la semana nueve, a partir de la cual se observa un súbito incremento en ambos tratamientos, indicando un comportamiento similar. Este comportamiento se podría explicar con base en la correlación estadística de Pearson (tabla 1), que indica una correlación negativa entre la humedad de campo así como la humedad higroscópica y la población de bacterias (Tabla 2) como se observa en las graficas 5 y 6 donde se relaciona la humedad en función del tiempo.

Gráfica 3: Población de bacterias presentes en un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb



De la gráfica 3 también se deduce que la población de bacterias en el suelo con plaguicida es ligeramente inferior lo cual podría indicar un ligero efecto del fungicida sobre la población de estos microorganismos, atribuible probablemente a un deterioro en la actividad de la rizosfera. Sin embargo, el análisis estadístico muestra que no hay diferencia significativa ($p=0.932$) entre las poblaciones de bacterias de los dos tratamientos como se muestra en la tabla 4 del anexo 1. Este análisis permite asegurar por lo tanto que el plaguicida aplicado no produce ningún efecto sobre la población de bacterias, indicando que las bacterias no se vieron afectadas por el fungicida.

Este comportamiento podría ser también atribuido a la composición química de los ingredientes activos, ya que tanto el Mancozeb como el Cymoxanil tienen carbono y nitrógeno en su estructura, pero en este caso no se puede asegurar que los microorganismos lo tomaran como fuente de energía y para aumentar su población. Según Tellier *et al*, 2002 la disponibilidad del nitrógeno para la planta

depende de la actividad microbiológica, dicha actividad es mayor a pH cercano a la neutralidad, a menos en lo que respecta a nitrificación y fijación biológica. Por lo tanto, la mayor disponibilidad de nitrógeno estará alrededor de pH 7.0, donde las bacterias pueden desarrollarse mejor. De modo que, las condiciones químicas pueden haber sido favorables para las bacterias ya que el pH del suelo estuvo siempre cercano o igual a 7.0 y, posiblemente este fue un factor para que las bacterias no se vieran afectadas por el plaguicida.

4.1.1.2. Conteo de actinomicetos: En la gráfica 4 se relaciona el conteo de actinomicetos en función del tiempo, allí se observa que esta población es muy variable en ambos tratamientos, con una tendencia a la disminución hacia la semana 9 para el tratamiento sin plaguicida, y continúa con una fuerte disminución en el tratamiento con plaguicida, indicando un posible efecto sobre esta población de microorganismos. Sin embargo, el análisis estadístico reportado en la tabla 4 del anexo 1 muestra que no hay diferencia significativa entre los dos tratamientos ($p=0.849$). La correlación de Pearson (Tabla 1) muestra que hay una correlación negativa entre la población de Actinomicetos y la humedad tanto de campo como higroscópica mostrando así la influencia de esta propiedad del suelo sobre la población de este tipo de microorganismos, de tal manera que cuando se aumenta la humedad disminuye el conteo de actinomicetos.

Para la población de actinomicetos al igual que para las bacterias no se observan diferencias significativas entre los dos tratamientos, indicando que el fungicida utilizado tampoco tiene efectos adversos sobre estas poblaciones. Con excepción del último muestreo en donde se observa un fuerte decrecimiento del conteo de actinomicetos en el suelo con plaguicida indicando que para ese momento hubo un efecto negativo en esta población de microorganismos.

Gráfica 4: Población de actinomicetos presentes en un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb

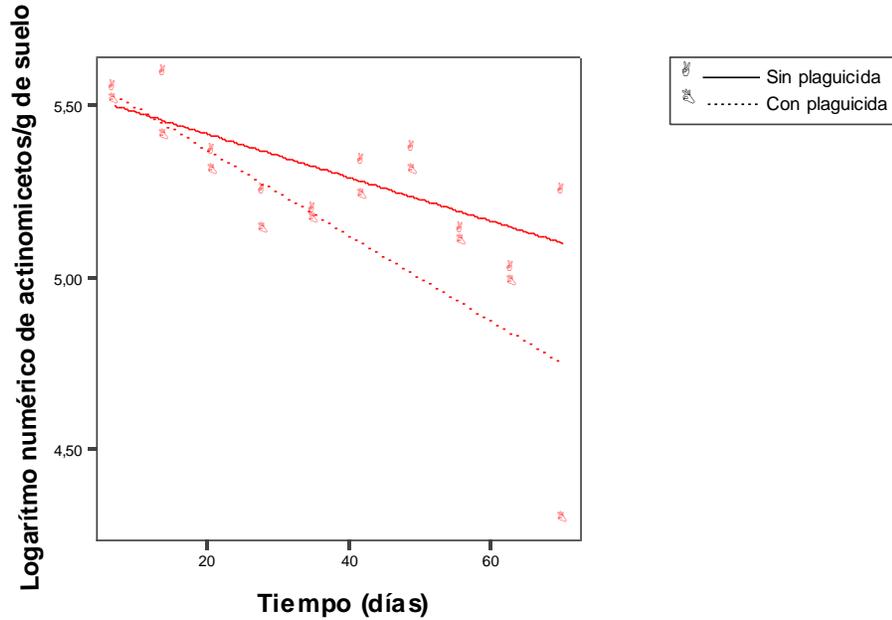


Tabla 1: Correlación entre las variables microbiológicas, físicas y químicas evaluadas en el suelo

Correlaciones

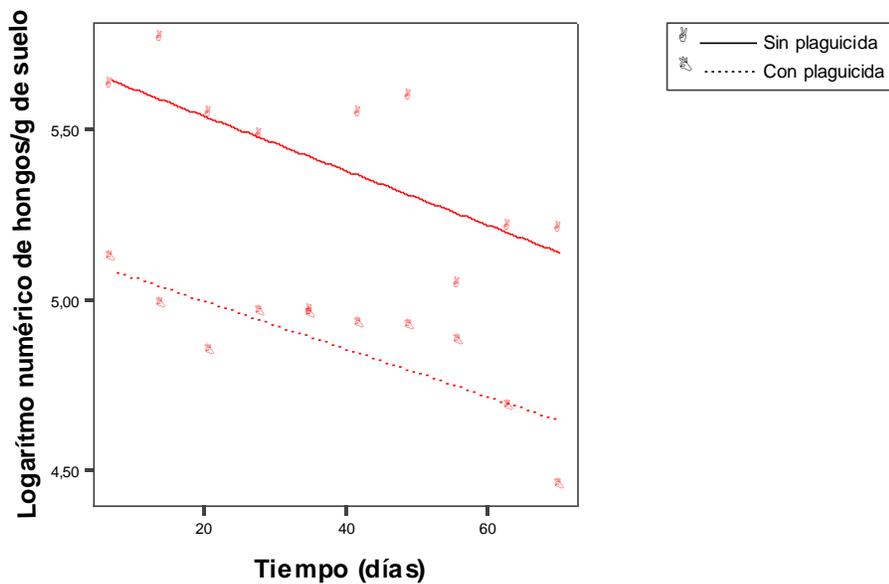
| | | Bacterias (UFC/g de suelo) | Hongos (UFC/g) | Actinomicetos (UFC/g) | Humedad campo (%) | Humedad higroscópica (%) | pH |
|----------------------------|------------------------|----------------------------|----------------|-----------------------|-------------------|--------------------------|---------|
| Bacterias (UFC/g de suelo) | Correlación de Pearson | 1 | ,398 | ,586** | -,633** | -,672** | -,512* |
| | Sig. (bilateral) | . | ,082 | ,007 | ,003 | ,001 | ,021 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Hongos (UFC/g) | Correlación de Pearson | ,398 | 1 | ,717** | -,485* | -,435 | -,302 |
| | Sig. (bilateral) | ,082 | . | ,000 | ,030 | ,055 | ,196 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Actinomicetos (UFC/g) | Correlación de Pearson | ,586** | ,717** | 1 | -,815** | -,542* | -,632** |
| | Sig. (bilateral) | ,007 | ,000 | . | ,000 | ,013 | ,003 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Humedad campo (%) | Correlación de Pearson | -,633** | -,485* | -,815** | 1 | ,741** | ,884** |
| | Sig. (bilateral) | ,003 | ,030 | ,000 | . | ,000 | ,000 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Humedad higroscópica (%) | Correlación de Pearson | -,672** | -,435 | -,542* | ,741** | 1 | ,625** |
| | Sig. (bilateral) | ,001 | ,055 | ,013 | ,000 | . | ,003 |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| pH | Correlación de Pearson | -,512* | -,302 | -,632** | ,884** | ,625** | 1 |
| | Sig. (bilateral) | ,021 | ,196 | ,003 | ,000 | ,003 | . |
| | N | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |

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

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

4.1.1.3. Cuento de mohos y levaduras: Los resultados se presentan en la gráfica 5. Se puede apreciar que el conteo de la población de mohos y levaduras en función del tiempo para ambos tratamientos es muy variable, siendo siempre menor en el suelo con plaguicida en donde se observa una fuerte disminución a partir de la 7 semana. El análisis estadístico (tabla 4 anexo 1) muestra que existe una diferencia significativa entre los dos tratamientos (sig.= 0.002), indicando el efecto negativo del fungicida sobre esta población. Esto puede ser atribuido a la labor conjunta de los ingredientes activos del fungicida, ya que su modo de acción va dirigido a impedir el desarrollo y crecimiento de los hongos. Además, el Cymoxanil + mancozeb inhibe diversos procesos metabólicos en las células de los hongos como la síntesis de ADN y ARN, síntesis de aminoácidos y lípidos, respiración celular y permeabilidad de la membrana celular (Márquez, 1999).

Gráfica 5: Población de mohos y levaduras presentes en un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb



Además, de acuerdo a la correlación de Pearson (tabla 1) se detecta una correlación negativa entre la humedad de campo y el conteo de estos microorganismos indicando que a mayor humedad menor población de mohos y levaduras, puesto que probablemente sobrepasa la humedad óptima para el desarrollo de los hongos en el suelo (aprox. 40%). Estos resultados por lo tanto permiten comprobar que la aplicación de fungicidas con fines de control de plagas afecta no solamente a los microorganismos patógenos sino también a los hongos benéficos y necesarios para la transformación adecuada de la materia orgánica del suelo, aunque esta población no fue determinante para la transformación de la materia orgánica.

Al comparar los dos tratamientos evaluados (suelo con y sin plaguicida) se puede observar que hay un comportamiento similar a lo largo del tiempo; en los tres grupos de microorganismos analizados, bacterias hongos y actinomicetos se observó que la población se redujo, pero no hay un efecto significativo del plaguicida en la población de bacterias y actinomicetos, mientras que si fue significativo para la población de hongos (sig. Bilateral 0.002). Este resultado puede ser debido a la correlación negativa con la humedad, la cual puede incidir en algún momento sobre el número de microorganismos debido a que existe un rango dentro del cual el crecimiento de la población es óptima y unos niveles mínimos y máximos de tolerancia por fuera de ellos, los microorganismos no pueden crecer. Si hay altas temperaturas el porcentaje de humedad desciende y puede haber desnaturalización de las proteínas y reducción de la velocidad de las reacciones bioquímicas. Además, los microorganismos toleran ciertos valores de humedad dependiendo de la especie (Tsai *et al*, 1992).

Los resultados encontrados en este estudio muestran que el fungicida cymoxanil + mancozeb es tóxico para mohos y levaduras presentes en el suelo, pero otros microorganismos como las bacterias y actinomicetos pueden llegar a tener resistencia al pesticida, pues en los resultados se observó que solo había

diferencia significativa entre tratamientos para la población de mohos y levaduras ($p= 0.001$). En la gráfica 6 se puede apreciar que si hay diferencia entre la población de hongos pues en el suelo sin plaguicida el conteo alcanzó cifras mas altas, hasta $58,0 \times 10^4$ UFC/g de suelo mientras que en el suelo con plaguicida el máximo fue $13,1 \times 10^4$ UFC/g de suelo (ver tabla 2). Al comparar mediante el análisis estadístico los resultados de los dos tratamientos (con y sin plaguicida) se puede deducir que el plaguicida afecta la población de mohos y levaduras (basándose en la media, $\text{sig}=0.001$), mientras que no afecta la población de bacterias ($\text{sig}=0.784$) ni la de actinomicetos ($\text{sig}=0.831$).

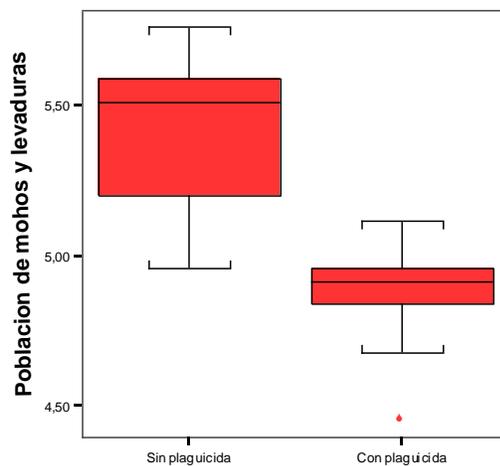
Mediante el análisis estadístico (Tabla 4 Anexo 1) se pudo observar que los datos de la población de bacterias, actinomicetos y mohos y levaduras se ajustan a la distribución normal (Shapiro-Wilk, $\text{sig}.>0.05$). Al realizar el análisis para hacer la comparación entre tratamientos (con y sin plaguicida) resultó que todos los datos, excepto los de la población de mohos y levaduras ($\text{sig}.= 0.002$), se ajustan a la homogeneidad de varianza. Por lo tanto se aplica una prueba paramétrica como la prueba T para muestras independientes.

Se confirma que la población de mohos y levaduras fue susceptible al plaguicida, según los datos obtenidos, ya que el número de estos microorganismos alcanzó cifras más altas en el suelo sin plaguicida que con plaguicida, como se puede observar en el diagrama de caja (gráfica 6). En esta gráfica hay un área sombreada donde están las medidas de tendencia central, que indica que en ese rango se encuentran la mayor cantidad de datos, y las barras indican las medidas de dispersión.

Si se comparan estos resultados con estudios realizados en el departamento del Cauca en un suelo cultivado con chontaduro (Bravo *et al*, 2004), se encontró un serio deterioro de propiedades físicas y químicas del suelo así como de su nivel de fertilidad, resultados que corresponden con bajos conteos y poca diversidad de

microorganismos, con predominio de actinomicetos y altos niveles de infección de micorrizas en la rizósfera y esporas en los suelos, lo anterior como resultado de la aplicación de altas y repetidas dosis de insecticidas para el control del barrenador del fruto. Estos resultados muestran que los actinomicetos suelen ser resistentes al uso de algunos plaguicidas, similar a lo que ocurrió en este trabajo; aunque en algún momento la función de la rizósfera se puede ver afectada.

Gráfica 6: Diagrama de caja (población de mohos y levaduras presentes en el suelo evaluado, con y sin aplicación del fungicida)



En la tabla 1 se puede apreciar que, estadísticamente hay correlación significativa entre la población de bacterias y el porcentaje de humedad higroscópica (sig. Bilateral 0,001); igualmente se encontró que la correlación es significativa entre la población de actinomicetos y el porcentaje de humedad de campo (sig= 0.000).

A partir de la correlación entre los parámetros físicos y químicos del suelo con los resultados de la población de los microorganismos se puede inferir que estos análisis son determinantes para comprender el comportamiento de la población de microorganismos, por ejemplo, el alto contenido de materia orgánica del suelo (entre 18.72% y 21.87%) a lo largo del tiempo de muestreo puede incidir sobre la

población de microorganismos. Aunque este parámetro solo se evaluó en 3 de las 10 muestras esto fue necesario para comprobar que el suelo no presentó gran diferencia con y sin plaguicida. Estos análisis no se realizaron durante todo el muestreo ya que los valores generalmente no son muy variables en cortos periodos de tiempo. En los resultados se encontró una correlación significativa entre la población de bacterias y la humedad higroscópica ($\text{sig}=0.001$), concordando con los datos encontrados por Tsai *et al*, 1992, que sugieren que la humedad es uno de los factores que regula la actividad microbiana permitiendo el mejor desarrollo de los microorganismos

4.2 Resultados de parámetros físicos y químicos

Los resultados de estos análisis se relacionan en la tabla 2; estos datos permitieron controlar el experimento y verificar que los resultados corresponden a la acción del fungicida, como el caso de la humedad, la cual fue muy similar en ambos tratamientos a lo largo del tiempo. Este fue uno de los parámetros físicos mas importantes a tener en cuenta ya que el contenido de humedad de un suelo es determinante para la sobrevivencia de los microorganismos dado que bacterias, hongos y actinomicetos toleran diferentes rangos de humedad.

Se puede observar que como no hay variación de las propiedades del suelo, implica que no debe haber cambios en los contenidos de otros nutrientes ni en la textura del suelo, como se corrobora en la tabla 2, en donde las determinaciones de materia orgánica, nitrógeno y fósforo se tomaron en las semanas 1, 6 y 10 del muestreo. No se detectan cambios significativos entre los contenidos de materia orgánica (MO) durante las semanas de evaluación ni entre los dos tratamientos. Tampoco hay diferencias apreciables en los contenidos de nitrógeno en función del tiempo ni entre los dos tratamientos. Sin embargo sí se observan diferencias apreciables en los contenidos de fósforo en función del tiempo, pero no hay diferencias entre los dos tratamientos, indicando que el incremento del fósforo en

función del tiempo se puede atribuir al efecto de un encalante como la fosforita Huila aplicada antes de empezar el ensayo, y se corrobora con el incremento del pH mencionado anteriormente, pero no se detecta efecto del funguicida sobre los contenidos de estos nutrientes. Igualmente no se observan cambios en la textura ni en función del tiempo ni con los tratamientos.

4.2.1 Humedad: En la gráfica 7 se puede apreciar que los rangos de humedad de campo están comprendidos durante todo el tiempo del ensayo entre 30 y 40%, niveles apropiados para el normal desarrollo de los microorganismos. La humedad higroscópica (grafica 8) indica la máxima cantidad de agua que puede retener el suelo dentro de su estructura, en ella tampoco se observa variación apreciable en función del tiempo. No se observan diferencias significativas entre los valores de humedades de los dos tratamientos.

Gráfica 7: Humedad de campo de un suelo con y sin el funguicida cymoxanil + mancozeb

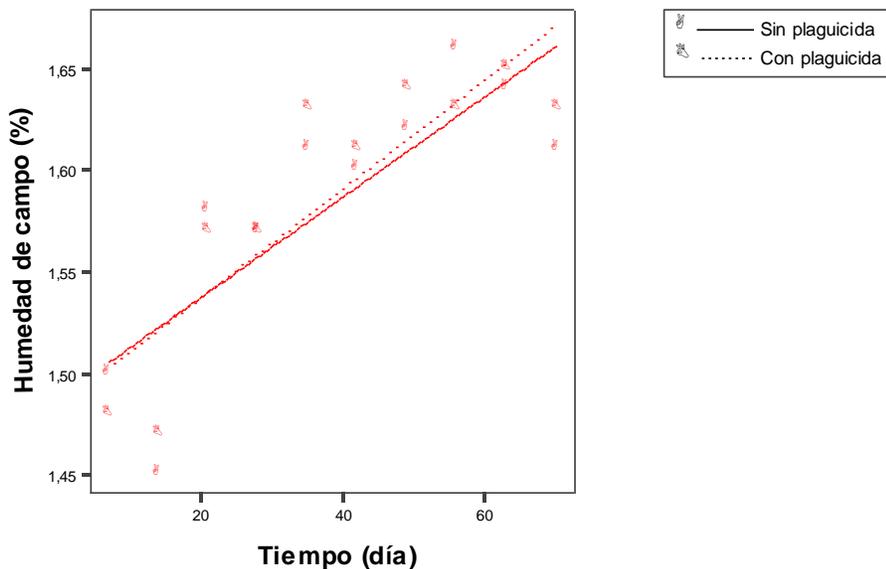
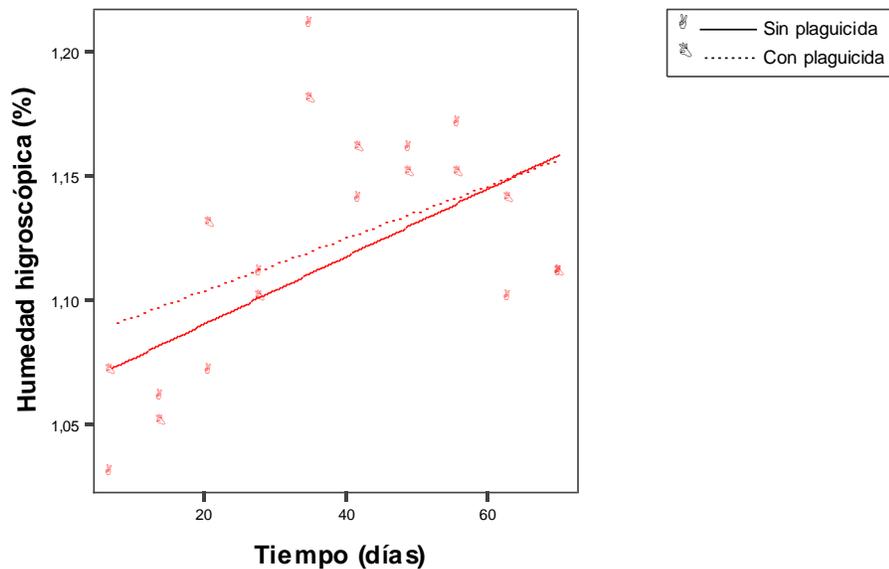


Tabla 2: Resultados de parámetros físicos y químicos evaluados en el suelo

| Semana | Humedad de campo (%) | | Humedad higroscópica (%) | | pH | | Materia orgánica (%) | | Relación CN | | Nitrógeno (%) | | Fósforo (ppm) | | Textura | |
|--------|----------------------|----------|--------------------------|----------|----------|----------|----------------------|----------|-------------|----------|---------------|----------|---------------|----------|----------------|----------------|
| | Con Plag | Sin Plag | Con Plag | Sin Plag | Con Plag | Sin Plag | Con Plag | Sin Plag | Con Plag | Sin Plag | Con Plag | Sin Plag | Con Plag | Sin Plag | Con Plag | Sin Plag |
| 1 | 30.44 | 31.80 | 11.17 | 10.74 | 6.83 | 6.78 | 21.87 | 18.72 | 7.83 | 7.34 | 1.6197 | 1.4769 | 3.93 | 3.37 | Franco arenoso | Franco arenoso |
| 2 | 29.54 | 28.06 | 11.15 | 11.38 | 6.75 | 6.68 | | | | | | | | | | |
| 3 | 37.26 | 38.42 | 13.50 | 11.79 | 6.89 | 6.94 | | | | | | | | | | |
| 4 | 37.52 | 37.30 | 12.70 | 13.0 | 7.0 | 6.94 | | | | | | | | | | |
| 5 | 42.27 | 41.01 | 15.30 | 16.3 | 7.07 | 7.09 | | | | | | | | | | |
| 6 | 40.66 | 40.15 | 14.37 | 13.9 | 7.25 | 7.36 | 20.26 | 20.36 | 5.36 | 6.22 | 2.1905 | 1.9037 | 5.39 | 5.78 | Franco arenoso | Franco arenoso |
| 7 | 43.74 | 41.80 | 14.28 | 14.4 | 7.29 | 7.47 | | | | | | | | | | |
| 8 | 43.03 | 45.42 | 14.10 | 14.7 | 7.39 | 7.39 | | | | | | | | | | |
| 9 | 44.83 | 43.55 | 13.80 | 12.6 | 7.25 | 7.42 | | | | | | | | | | |
| 10 | 42.41 | 41.13 | 12.90 | 12.9 | 7.20 | 7.28 | 21.56 | 19.48 | 8.69 | 7.02 | 1.4416 | 1.6095 | 6.60 | 6.98 | Franco arenoso | Franco arenoso |

Por otra parte, las propiedades físicas y químicas evaluadas no se vieron afectadas por el plaguicida, el pH y la humedad fueron los parámetros de éste tipo que se midieron en todo el muestreo, en ellos no se presentó diferencia entre los tratamientos, pues la humedad depende básicamente de la capacidad de retención del agua en el suelo y no de los nutrientes o compuestos presentes en el suelo, al igual que el pH también se relaciona con la humedad ya que por ejemplo, los suelos ácidos son propios de regiones húmedas donde el agua de las lluvias lixivia las sales y los suelos alcalinos son propios de regiones áridas, donde la precipitación es menor que la evapotranspiración según Garavito, (1974).

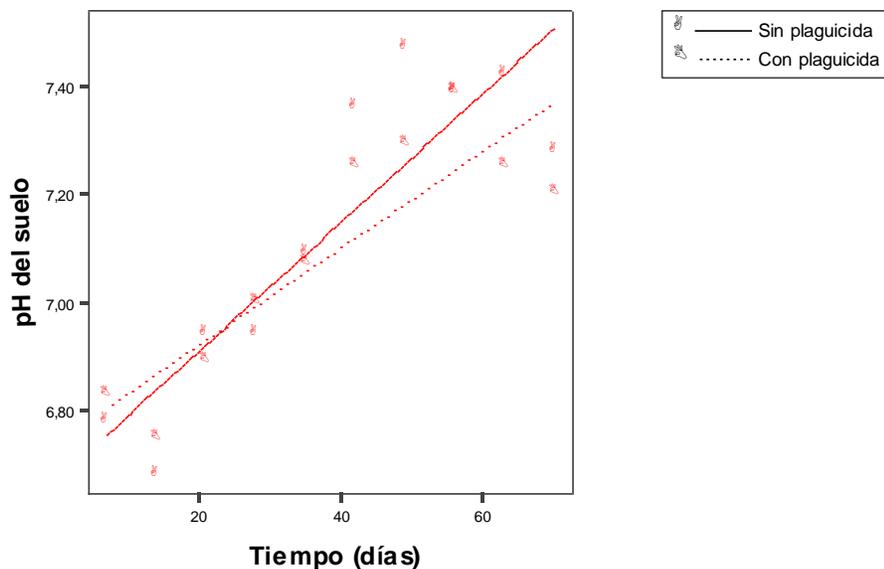
Gráfica 8: Humedad higroscópica de un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb



4.2.2 pH: Se detecta un valor de pH que no corresponde al valor normal de los suelos del Cauca, los cuales son de carácter fuertemente ácido, indicando un fuerte enclamiento del suelo antes de empezar el ensayo de este trabajo. Durante las tres primeras semanas mantiene una leve acidez, sin existir diferencia significativa entre los dos tratamientos y posteriormente pasan a ser de carácter

básico atribuible a la liberación lenta de las bases presentes en el encalante utilizado (tabla 3). Se observa un ligero incremento en función del tiempo para los dos tratamientos, como se observa en la gráfica 9, sin embargo, no existe diferencia significativa entre los valores de pH de los dos tratamientos en función del tiempo, indicando ningún efecto del fungicida aplicado sobre la reacción del suelo como era de esperarse y como se puede deducir del análisis estadístico ($p=0.234$, Tabla 4 del anexo 1).

Gráfica 9: pH de un suelo con y sin el fungicida cymoxanil + mancozeb



El pH es una de las propiedades químicas del suelo más importante y de él depende gran parte de la disponibilidad de nutrientes. El valor de pH registrado en estos suelos es apropiado para el normal desarrollo de los microorganismos. Según Acuña *et al*, 2006 existen una gama de compuestos que inducen cambios de pH en la raíz de las plantas, entre ellos los agroquímicos utilizados comúnmente en las fincas, pero en este caso no se observó tal efecto ya que el pH se mantuvo casi igual en los dos tratamientos sin presentar diferencia significativa.

4.2.3 Materia orgánica: El valor de MO superior al valor normal encontrado para suelos del Cauca, indicando también la posible aplicación de abono orgánico antes de empezar el tratamiento. No se detectan cambios apreciables entre los contenidos de MO durante las semanas de evaluación ni entre los dos tratamientos (tabla 2).

4.2.4 Nitrógeno: Los valores encontrados en la determinación de nitrógeno corresponden a niveles altos para este tipo de suelos (según Valencia, 1996). No hay diferencias apreciables en los contenidos de Nitrógeno en función del tiempo ni entre los dos tratamientos (tabla 2).

4.2.5 Fósforo: Los valores de P son bajos, normales para este tipo de suelos (según Valencia, 1996). Se observan diferencias apreciables en los contenidos de P en función del tiempo, pero no hay diferencias entre los dos tratamientos, indicando que el incremento del P se puede atribuir al efecto de un encalante o de la fosforita Huila aplicada antes de empezar el ensayo, los cuales son de lenta liberación y se corrobora con el incremento del pH mencionado anteriormente, pero no se detecta efecto del fungicida sobre los contenidos de estos nutrientes (tabla 2).

4.2.6 Textura: Como se observa en la tabla 2, las determinaciones de textura se tomaron únicamente en las semanas 1, 6 y 10 del muestreo. La textura pertenece a un suelo franco arenoso correspondiente a un suelo cultivable. No se observan cambios en la textura ni en función del tiempo ni con los tratamientos.

4.3 Identificación de microorganismos

Se identificaron 8 géneros de hongos filamentosos: *Cunninghamella* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetium* sp., *Cephalosporium* sp., *Graphium* sp., *Verticillium* sp., y *Paecilomyces* sp. Para cada uno de las condiciones del suelo se observaron diferentes géneros de hongos (Tabla 3), a excepción de los géneros

Penicillium sp y *Paecilomyces* sp que se encontraron en suelo con los dos tipos de condiciones (con y sin plaguicidas). La presencia de estos géneros de hongos indica que el plaguicida Curzate no afectó su crecimiento totalmente, solo disminuyó su número, por lo cual puede afirmarse que hubo resistencia de estos hongos ante el plaguicida utilizado. A continuación se describen e ilustran las fotografías de los hongos encontrados:

Tabla 3: Resultados de la identificación taxonómica de hongos provenientes de muestras de suelo con dos tipos de condiciones (con y sin plaguicidas).

| Código de muestra | Identificación taxonómica | Tipo de condición |
|----------------------|---------------------------|-------------------|
| HTA 05 6 | <i>Penicillium</i> sp. | Con plaguicida |
| HTA 06 2 | <i>Chaetomium</i> sp. | |
| HTA 06 4 | <i>Penicillium</i> sp. | |
| HTA 08 Nov 20-Ene 08 | <i>Paecilomyces</i> sp. | |
| HTA Nov 30-Ene 08 | <i>Graphium</i> sp. | |
| Tesis Amparo 14 | <i>Cuningamella</i> sp. | |
| ATC 06 11 | <i>Penicillium</i> sp. | Sin plaguicida |
| HTC 7 | <i>Trichoderma</i> sp. | |
| HTC 07 1 | <i>Cephalosporium</i> sp. | |
| ATC 07 7 | <i>Verticillium</i> sp. | |
| HTC 012 3 | <i>Paecilomyces</i> sp. | |
| HTC 0125 | <i>Paecilomyces</i> sp. | |
| ATC 012 3 | <i>Paecilomyces</i> sp. | |
| HTC 012 13 | <i>Penicillium</i> sp. | |

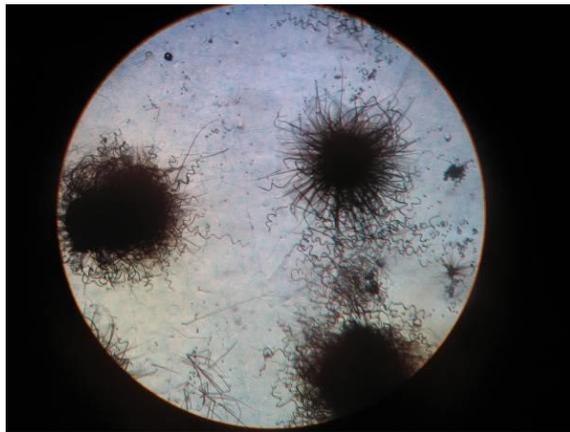
Los códigos de muestra indican el tipo de tratamiento, TA para el tratamiento con plaguicida y TC y ATC para el tratamiento sin plaguicida y la H corresponde a muestra de hongos.

***Chaetomium* sp.**

Morfología de la colonia: La textura es granulosa y su color es crema con café (Figura 1A). **Morfología microscópica:** Presenta hifas septadas con un peritecio redondo de color café y con apéndices filamentosos ondulados (Figura 1B).



A



B

Figura 1. *Chaetomium* sp. **A.** Morfología de la colonia **B.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

***Trichoderma* sp.**

Morfología de la colonia: Textura algodonosa y de color blanca (Figura 2A).

Morfología microscópica: Las hifas son septadas, los conidioforos son cortos con ángulos anchos, fialides que forman ángulos amplios hacia el conidioforo. Las conidias son redondas y están agrupadas justo al final de cada conidioforo. (Figura 2B).



A



B

Figura 2. *Trichoderma* sp. **A.** Morfología de la colonia **B.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

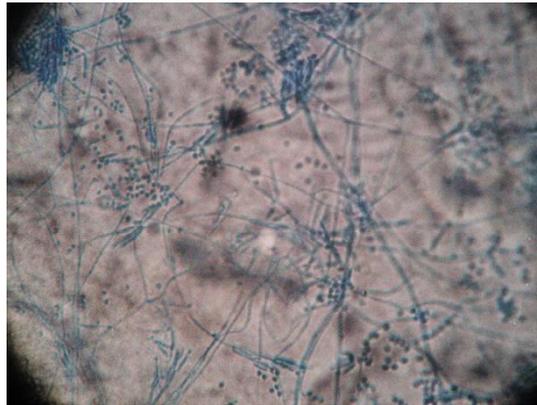
***Penicillium* sp.**

Morfología de la colonia: Textura polvorosa y de color blanco (Figura 3A).

Morfología microscópica: Hifas septadas con conidioforos ramificados que tienen ramas secundarias conocidas como medulas, las fialides tienen grupos de coidinias redondeadas (Figura 3B).



A



B

Figura 3. *Penicillium* sp. **A.** Morfología de la colonia **B.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

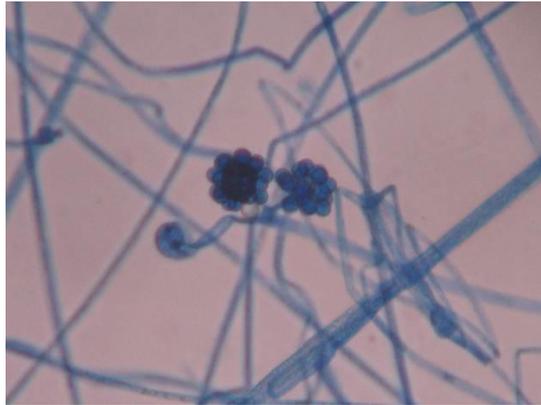
***Cunninghamella* sp.**

Morfología de la colonia: Textura muy algodonosa y de color blanco (Figura 4A).

Morfología microscópica: Hifas anchas, los esporangioforos son largos, finalizando en vesículas abultadas. Las vesículas están cubiertas con dentículos espinosos, cada uno soportando esporangioforos redondos a ovals (Figura 4B).



A



B



C

Figura 4. *Cunninghamella* sp. **A.** Morfología de la colonia **B y C.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

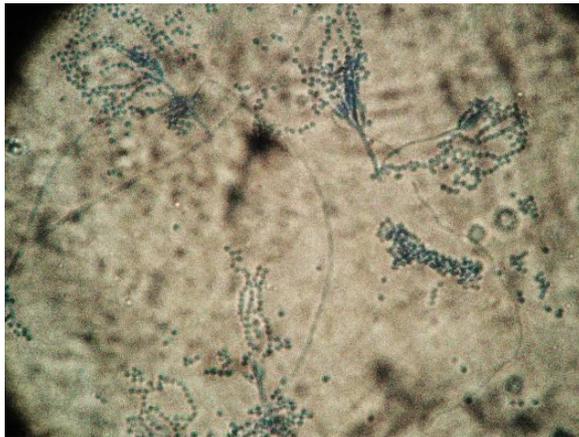
***Paecilomyces* sp.**

Morfología de la colonia: Textura aterciopelada de color rosa (Figura 5A).

Morfología microscópica: Similar a *Penicillium* sp. pero las fialides son mas alargadas (Figura 5B).



A



B

Figura 5. *Paecilomyces* sp. **A.** Morfología de la colonia **B.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

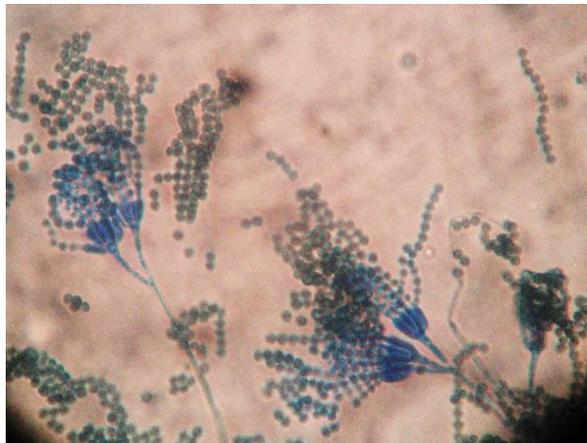
***Penicillium* sp.**

Morfología de la colonia: Textura polvorosa y de color verde (Figura 6A).

Morfología microscópica: Hifas septadas con conidioforos ramificados que tienen ramas secundarias conocidas como medulas, las fialides tienen grupos de coidinias redondeadas (Figura 6B).



A



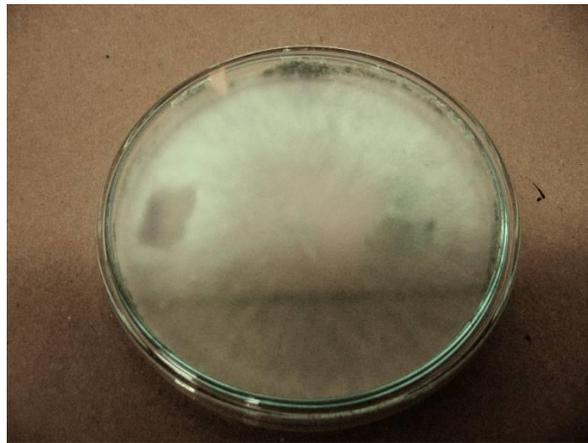
B

Figura 6. *Penicillium* sp. **A.** Morfología de la colonia **B.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

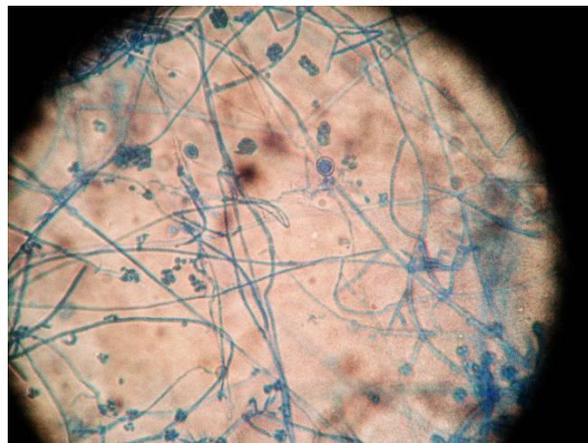
***Verticillium* sp.**

Morfología de la colonia: Textura aterciopelada de color blanco (Figura 7A).

Morfología microscópica: Hifas septadas, conidioforos ramificados, fialides muy alongadas con un ápice puntiagudo. Las conidias son ovales y aparecen solas o en grupos al final de las fialides (Figura 7B).



A

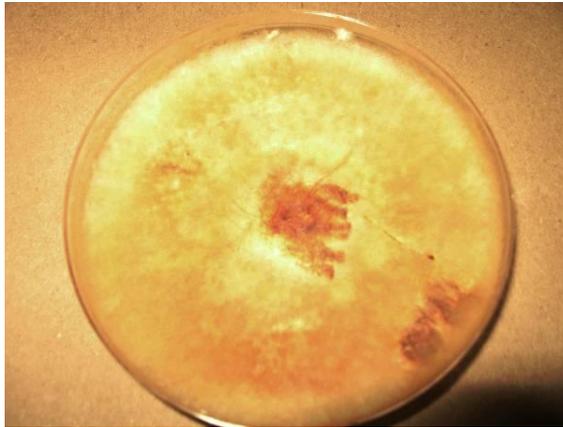


B

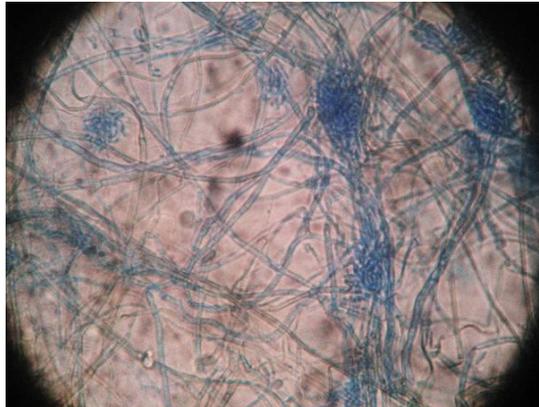
Figura 7. *Verticillium* sp. **A.** Morfología de la colonia **B.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

***Graphium* sp.**

Morfología de la colonia: La textura es algodonosa y su color es de naranja a café (Figura 8A). **Morfología microscópica:** Hifas septadas con conidioforos que están segmentados juntos formando una synnemata. El ápice de cada synnema es un grupo de conidias ovals muy coloreadas (Figura 8B).



A



B

Figura 8. *Graphium* sp. **A.** Morfología de la colonia **B.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

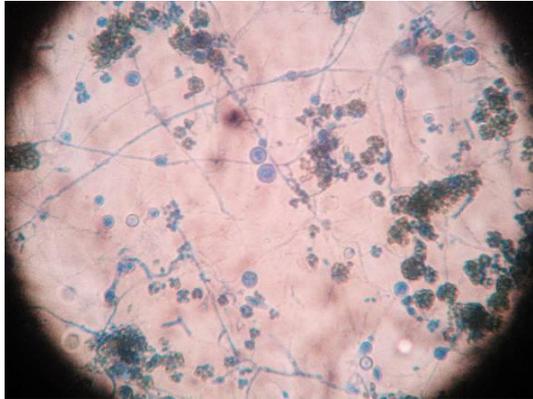
***Cephalosporium* sp.**

Morfología de la colonia: Textura algodonosa y de color blanca (Figura 9A).

Morfología microscópica: Hifas septadas no ramificadas, conidias oblongas formando grupos disruptos en el ápice de las fialides (Figura 9B).



A



B

Figura 9. *Cephalosporium* sp. **A.** Morfología de la colonia **B.** Morfología microscópica con la tinción de azul de lactofenol (40X).

Durante el proceso de incubación se realizaron varios repiques debido a la presencia de algunos contaminantes como *Penicillium* sp.

Finalmente los cultivos de hongos se sembraron en tubos de ensayo con PDA inclinado con el fin de evitar contaminaciones posteriores y se realizaron dos repiques de cada uno en caja de petri con PDA, y se encuentran depositados en el cepario de hongos del Departamento de Biología de la Universidad del Valle.

5. CONCLUSIONES

- En este estudio se comprobó que el fungicida Curzate (Mancozeb + Cymoxanil) tuvo un efecto negativo en la población de mohos y levaduras presentes en el suelo al disminuir su número en forma significativa ($p=0.002$).
- El fungicida no mostró ningún efecto sobre la población de bacterias y actinomicetos presentes en el suelo.
- No se detecta ningún efecto del plaguicida sobre las propiedades físicas y químicas analizadas, ya que en ninguno de éstos parámetros se presentó diferencia significativa entre los tratamientos. Se encontró en algunos casos correlación entre las poblaciones de microorganismos y algunas de las propiedades físicas y químicas evaluadas, demostrando que éstas tienen un efecto importante sobre la actividad de los microorganismos.
- La presencia de los hongos *Cunnigamella sp*, *Chaetonium sp*, *Graphium sp*, *Penicillium sp*, y *Paecilomyces sp*, puede indicar resistencia al fungicida Cymoxanil + Mancozeb.

6. RECOMENDACIONES

Este estudio sirve como base para continuar con otras investigaciones relacionadas con el efecto de los plaguicidas en los microorganismos del suelo y, tratar de conocer como actúan estas sustancias y específicamente sus componentes activos al interactuar con los microorganismos del suelo y tratar de conocer también cual es su destino al ser liberadas al medio ambiente.

En los estudios que se realicen a futuro en la Universidad del Cauca sería importante tener acceso a una tecnología de avanzada que permita la identificación de microorganismos, ya que esta labor es un poco complicada teniendo en cuenta la gran cantidad de éstos microorganismos que aun no se conocen precisamente por la falta de técnicas en este campo; esto permitiría hacer el trabajo mucho mas exacto y hacer un gran aporte a la ciencia, además de contribuir a la preservación del suelo que es tan importante para el ecosistema.

El uso de fungicidas como el Cymoxanil + Mancozeb afecta no solamente a los hongos fitopatógenos, sino también a otros grupos de hongos que pueden ser benéficos para el suelo y las plantas, por ello se recomienda el uso de metodologías de control biológico menos perjudiciales para el ambiente.

En estudios posteriores se recomienda evaluar el efecto de los plaguicidas en la biodiversidad de microorganismos del suelo que puedan complementar el conocimiento del efecto de los agroquímicos no solo en cuanto al número de organismos cuantificables por métodos tradicionales de laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

ACUÑA, Oscar; PEÑA, Wagner; SERRANO, Edgardo; POCASANGRE, Luis; ROSALES, Franklin; DELGADO, Eduardo; TREJOS, Javier; SEGURA, Alvaro. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos. En: XVI Reunion Internacional para asociación y cooperación en pesquisas de banano en el Caribe y America tropical. (2006) Santa Catarina, Brasil

ANTONIOUS, George F. Impacto of soil management and two batanical insecticides on urease and invertase activity. En: Journal of Environmental science and health. Vol. 38, Nro. 4 (2003) pp. 479-488

ARAYA, M. La biodegradación acelerada de nematicidas no-fumigantes en plantaciones de banano (*Mussa AAA*). En: XVI Reunión Internacional Acobat (2004) Oaxaca, México.

BRAVO, Isabel; GIRALDO, Efrén. Manual de prácticas de química agrícola. Análisis de suelos. Universidad del Cauca. Popayán (2003)

BRAVO, Isabel; DUARTE, Bibiana; FERNANDEZ, Clara. Evaluación de las propiedades físico químicas y biológicas de suelos dedicados al cultivo de chontaduro del corregimiento de Cuatro esquinas Departamento del Cauca. En: XVI Congreso Latinoamericano y XII Congreso Colombiano de la ciencia del suelo (26° : 2004 : Cartagena) Sociedad Latinoamericana de la Ciencia del Suelo. Cartagena, (2004)

BORDJIBA, Ouahiba; STEIMAN, Régine; KADRI, Malika; SEMADI, Amman; GUIRAUD, Pascale. Removal of herbicides from liquid media by fungi isolated from a contaminated soil. En: Journal of Environmental Quality. Vol. 30 (2001) pp. 418-426

CALLE BELLIDO, Juan. Caracterización morfológica y molecular de hongos fitopatógenos de suelo e identificación de bacterias foliares en el cultivo de cebolla. (2005). Disponible en: <http://grad.uprm.edu/tesis/callebellido.pdf>

CONTRERAS, Diana; FUENTES, Nuria; SAUCO, Cristina. Análisis y determinación de la composición de un suelo. (2003) Disponible en: http://www2.ubu.es/gabpres/actualidad/Notas_Prensa/NOTAS2007/premioinv20-06-06.shtml

DAGLIO, G.; STERREN, M.; BENINTENDE, S. Almacenamiento de muestras de suelo: incidencia sobre la cuantificación de biomasa microbiana. En: AGRISCIENTIA. Vol. XXII, Nro 2. (2005)

DASS, A. C.; MUKHERJEE, D. Soil application of insecticides influences microorganisms and plant nutrients. En: Applied Soil Ecology. Nro 14. (2000) pp. 55-62

DAZA, Martha; ALVAREZ, Javier; ROJAS, Amparo. Efecto de materiales orgánicos e inorgánicos sobre las fracciones de fósforo de un Oxisol de los Llanos Orientales colombianos. En: Agronomía colombiana. Vol. 24, Nro 2. (2006) pp. 326-333

DELGADO HIGUERA, Mario. Los microorganismos del suelo en la nutrición vegetal. (2005). Disponible en: <http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?id=20,63,0,0,1,0>

DIGRAK, Metin; KAZANICI, Ferdag. Effect of some organophosphorus insecticides on soil microorganisms. En: TUBITAK, Nro 25. (2001) pp. 51-58

DIGRAK, Metin; OZCELIK, S. Effect of some pesticides on soil microorganisms. En: Environmental contamination and toxicology. Nro 60 (1998) pp. 916-922

EDMUNDS GORMAN, TAHIRA Alexandra. Estimación de la contaminación ambiental por plaguicidas en suelos agrícolas de la isla de Pascua, V región. (2007) Disponible en: www.cenma.cl/cenma/labqui/TEdmunds_tesis.pdf

Análisis microbiológicos. Disponible en: www.ine.gob.mx/publicaciones/libros/509/analisis2.pdf

FEINGENBROGEL, Valérie; LE CALVE, Stéphane; MIRABEL, Philippe. Molar absorptivities of 2,4-D, cymoxanil, fenpropidin, isoproturon and pyrimethanil in aqueous solution in the near-uv. En: Spectrochimica Acta part A. Vol. 63 (2006) pp. 103-110

FERNANDEZ, Leticia; ZALBA, Pablo; GOMEZ, Marisa; SAGARDOY, Marcelo. Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera. En: Ciencia del suelo. Vol.23, Nro 1. (2005)

GARAVITO, F. Propiedades Químicas de los Suelos. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Vol. 10, Nro 11. Bogotá. (1974)

GONZALES ANTA, Gustavo. Microorganismos: principales grupos microbianos solubilizadores de fósforo del suelo. (2005) Disponible en: www.rizobacter.com.ar/home/es/productos/microorg.pdf

GONZALES, Salvador. Curso de bioquímica del suelo. (2005) Disponible en: <http://www.unex.es/edafo/ECAP/ECAL6MActinomycetos.htm>

GUIDA, Marco; INGLESE, Mafalda; MERIC, Sureyya. A multi-battery toxicity investigation on fungicides. En: Desalination. Vol. 226 (2008) pp. 262-270

GUTIERREZ, Héctor; BARBA, Luz Edith; MATERON, Hernán. Movilidad de los plaguicidas carbofuran e imidacloprid en un suelo Typic Humitropept. En: Agronomía colombiana Vol. 1, Nro 25 (2007)

HERNANDEZ, Luís G, ESCALONA, Miguel A. Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR. En: Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana. Vol. 16, Nro 1. (2003)

INGRAHAM, John; INGRAHAM, Catherine; PRENTISS, Harriet. Introducción a la microbiología. Barcelona: Reverte, 1998. p. 324-332

KASTNER, M.; STREIBICH, S.; BEYRER, M. RICHNOW, H. Y FRITSCH, W. Formation of bound residues during microbial degradation of [¹⁴C] Anthracene in soil. En: Applied and environmental microbiology. Vol. 65, Nro 5. (1999) pp. 1834-1842

MARQUEZ, Tomás. Modo de acción de Curzate, una molécula fungicida clave en las estrategias de control del mildiu. (1999) Disponible en: http://www.esp.dupont.com/sitecontent/news/xx_newsdetail.asp?pm_menuid=9&te_chID=9&fileid=513

MOLINA, Mauricio; MAHECHA, Liliana; MEDINA, Marisol. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. En: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Vol. 18, Nro 2. (2005) pp. 162-175

MOTTA, Beatriz; RODRIGUEZ, Camilo; MONTENEGRO, Hugo; MARULANDA, Jairo; CORREA, Adela y BENDECK, Myriam. Métodos analíticos del laboratorio de suelos. Quinta edición. Bogota. 1990

NIGOUL, Martín. Definición de materia orgánica del suelo. (2005). Disponible en: <http://www.manualdelombricultura.com/wwwboard/messages2/8099.html>

NOGALES, B. La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. En: Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente. Nro 14 (2005) pp. 41-51

OLALDE, V.; AGUILERA, L. Microorganismos y biodiversidad. En: Terra Latinoamericana. Vol. 16, Nro 003 (1998) pp. 289-292

OLEA, Nicolás; FERNANDEZ, Mariana. Plaguicidas persistentes. En: Congreso Implementación del Convenio de Contaminantes Orgánicos Persistentes (1º: 2001: Madrid) 18p

ORELLANA, José Abilio. Muestreo y análisis de suelo. (2005). Disponible en: <http://www.centa.gob.sv/uploads/documentos/Suelos%20Boletin.pdf>

PEREIRA, Guillermo; HERRERA, Jaime; MACHUCA, Angela; SANCHEZ, Manuel. Efecto del pH sobre el crecimiento *in vitro* de hongos ectomicorrícicos recolectados de plantaciones de *Pinus radiata*. En: Bosque. Vol. 3, Nro 28 (2007) pp. 215-219

PEREZ, Edier H; ERAZO, Alexander. Evaluación de las concentraciones de plaguicidas básicos en aguas superficiales. En: Noticias Químicas, Vol. 23, Nro 76. (2001) pp. 9-13

PEREZ, Edier H; SARMIENTO, Flor Maria. Estudio de la contaminación por plaguicidas organofosforados de los principales ríos del Valle geográfico del Cauca en la zona norte del departamento del Cauca en Colombia. En: Simposio centroamericano y del Caribe (IV: 1997: Panamá)

PRIMAVESI, Ana. Manejo ecologico del suelo. La agricultura en regiones tropicales. Quinta edicion. Sao Paulo. 1982

RODRIGUEZ, Dorian; SANABRIA, Maria. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que las causan. En: INCI. Vol. 30, Nro 12. (2005) pp. 739-744

ROSERO, Esteban; VIVAS, Dilbert, BENITEZ Neyla. Evaluación del grado de toxicidad de algunos de los plaguicidas mas utilizados en el departamento del Cauca mediante bioensayos con *Bacillus subtilis* ATCC 6633. En: Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. (XLI: 2006: Quibdo)

SANCHEZ, Juan; VILLEGAS, Javier; MARQUEZ, Liliana. Los actinomicetos en la fertilidad y producción agrícola. (2007) Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos47/actinomicetos/actinomicetos.shtml> (nov.10/08)

SANCHEZ MARTIN, M. J.; SANCHEZ CAMAZANO, M. Los plaguicidas adsorción y evolución en el suelo. (1984). Disponible en: <http://www.ceresnet.com/ceresnet/esp/servicios/teleformacion/agroambiente/plaguicidas.pdf>

SILVA, M.; A.; BACHMEIER, O. Biodisponibilidad de fósforo en un suelo del sur de Santa Fe (Argentina). Efectos de dos fuentes fosfatadas y sus mezclas con urea. En: Agriscientia. Vol. 23, No 2 (2006) pp. 91-97

TSAI, Siu Mui; BARAIBAR, Amalia; ROMANI, Vera. Microbiologia do solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Campinas. (1992)

TELLIER, Frédérique; FRITZ, René; LEROUX, Pierre; CARLIN-SINCLAIR, Abel; CHERTON, Jean-Claude. Metabolism of cymoxanil and analogs in strains of the fungus *Botrytis cinera* using high-performance liquid chromatography and ion-pair high-performance thin-layer chromatography. En: Journal of chromatography B. Vol. 769 (2002) pp. 35-46

TORO, Marcia. Interacciones microbianas de la rizósfera relacionadas con la nutrición fosforada de las plantas: Aplicación en Suelos Ácidos Tropicales. (1996) Disponible en: <http://www.ciens.ucv.ve/instzool/FAMT.html>

UNIGARRO, Alberto; BURBANO, Hernán; SANCHEZ, Marina. Evaluación de la calidad de suelos *Dystric cryandept* en el santuario de flora y fauna Galeras, Nariño. (2005). Disponible en: <http://www.biblioteca.unal.edu.co/revistas/index.php/acta-agronomica/article/view/119/256>

VALENCIA, Eduardo; PEÑA, Juan José. El suelo y sus habitantes microbianos: consideraciones ecológicas. En: Avance y Perspectiva. Vol. 20 (2001) pp. 401-406

VALENCIA, Hernando. Manual de prácticas de microorganismos del suelo. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Bogota. 1996 pp. 50

VERA, Diana Fernanda; PEREZ, Hernando; VALENCIA, Hernando. Distribución de hongos solubilizadores de fosfatos en dos microhábitats de suelo de dos unidades fisiográficas de Guaviare, Colombia. En: Acta Biológica Colombiana. Vol. 7, Nro 1 (2002) pp. 23-31

WALISZEWSKI, Stefan M.; INFANZON, Rosa M. Diferencias en concentración de plaguicidas organoclorados persistentes en suelo, paja y granos de trigo. En: Rev. Int. Contam. Ambiental. Vol1, Nro 19. (2003) pp 5-11.

WIDENFALK, Anneli; BERTILSSON, Stefan; SUNH, Ingvar, GOEDKOOP, Willem. Effects of pesticides on community composition and activity of sediment microbes-responses at various levels of microbial community organization. En: Environmental pollution. Vol. 20 (2007) pp. 1-9

<http://www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/specs/docs/paf/new/cymoxa05.pdf>

<http://www.sinoharvest.com/products/Mancozeb.shtml>)

<http://www.geocities.com/RainForest/4754/suelos.htm#EL%20SUELO>

http://www.basf.cl/asp-local/agro_prod_fichaweb.asp?prod_id=6

http://www.bravoag.com.mx/productos_descripcion.php?id=47

ANEXO 1

Tabla 4: PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZA

Prueba de homogeneidad de la varianza

| | | Estadístico de Levene | gl1 | gl2 | Sig. |
|----------------------|--|-----------------------|-----|--------|------|
| BACTERIAS | Basándose en la media | ,077 | 1 | 18 | ,784 |
| | Basándose en la mediana. | ,007 | 1 | 18 | ,932 |
| | Basándose en la mediana y con gl corregido | ,007 | 1 | 15,732 | ,933 |
| | Basándose en la media recortada | ,058 | 1 | 18 | ,812 |
| HONGOS | Basándose en la media | 17,478 | 1 | 18 | ,001 |
| | Basándose en la mediana. | 13,510 | 1 | 18 | ,002 |
| | Basándose en la mediana y con gl corregido | 13,510 | 1 | 9,849 | ,004 |
| | Basándose en la media recortada | 18,484 | 1 | 18 | ,000 |
| ACTINOMICETOS | Basándose en la media | ,047 | 1 | 18 | ,831 |
| | Basándose en la mediana. | ,037 | 1 | 18 | ,849 |
| | Basándose en la mediana y con gl corregido | ,037 | 1 | 17,627 | ,849 |
| | Basándose en la media recortada | ,041 | 1 | 18 | ,842 |
| HUMEDAD DE CAMPO | Basándose en la media | ,089 | 1 | 18 | ,769 |
| | Basándose en la mediana. | ,041 | 1 | 18 | ,842 |
| | Basándose en la mediana y con gl corregido | ,041 | 1 | 17,993 | ,842 |
| | Basándose en la media recortada | ,086 | 1 | 18 | ,773 |
| HUMEDAD HIGROSCOPICA | Basándose en la media | ,729 | 1 | 18 | ,404 |
| | Basándose en la mediana. | ,563 | 1 | 18 | ,463 |

| | | | | | |
|----|--|-------|---|--------|------|
| pH | Basándose en la mediana y con gl corregido | ,563 | 1 | 16,786 | ,463 |
| | Basándose en la media recortada | ,694 | 1 | 18 | ,416 |
| | Basándose en la media | 1,831 | 1 | 18 | ,193 |
| | Basándose en la mediana. | 1,514 | 1 | 18 | ,234 |
| | Basándose en la mediana y con gl corregido | 1,514 | 1 | 17,525 | ,235 |
| | Basándose en la media recortada | 1,827 | 1 | 18 | ,193 |

