

**EFFECTO DEL CONTROL QUÍMICO DE MALEZAS ASOCIADAS AL CULTIVO DEL
CAFÉ, SOBRE LA BIOMASA MICROBIANA EN LA REJOYA MUNICIPIO DE
POPAYÁN, DEPARTAMENTO DEL CAUCA**



**JAVIER EDUARDO FLOR SUAREZ
CARLOS FERNANDO VERGARA BASTIDAS**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA INGENIERÍA AGROPECUARIA
POPAYÁN
2011**

**EFFECTO DEL CONTROL QUÍMICO DE MALEZAS ASOCIADAS AL CULTIVO DEL
CAFÉ, SOBRE LA BIOMASA MICROBIANA EN LA REJOYA MUNICIPIO DE
POPAYÁN, DEPARTAMENTO DEL CAUCA**

**JAVIER EDUARDO FLOR SUAREZ
CARLOS FERNANDO VERGARA BASTIDAS**

**Trabajo de grado en la modalidad de Investigación para optar al título de Ingenieros
Agropecuarios**

**Director
M Sc. IVÁN ENRIQUE PAZ**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA INGENIERÍA AGROPECUARIA
POPAYÁN
2011**

Nota de aceptación

El Director y los Jurado han leído el presente documento, han escuchado la sustentación del mismo por sus autores y lo encuentran satisfactorio.

M Sc. IVÁN ENRIQUE PAZ
Director

cMg. NOÉ ALBÁN
Presidente del Jurado

M.Sc. FABIO ALONSO PRADO
Jurado

Popayán, 21 de Diciembre de 2011

DEDICATORIA

A Dios, por ser nuestro creador, amparo y fortaleza, cuando más lo necesitamos, y por hacer evidente su amor a través de cada uno de los que nos rodeó durante el transcurso de nuestra formación académica.

A nuestra familia por sus incansables sacrificios, que sin esperar nada a cambio, han sido pilares en nuestro camino y así, forman parte de este logro que nos abre puertas inimaginables en nuestro desarrollo profesional.

A nuestros maestros por su orientación, que además de enseñarnos que su conocimiento es producto de múltiples ensayos, también es producto de muchos errores.

A nuestros amigos y compañeros por que junto a ellos compartimos momentos agradables, por acompañarnos en los problemas cotidianos, como también en las buenas vivencias estudiantiles, que de momentos fueron maestros al compartir sus conocimientos y consejos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos salud y vida para el desarrollo de nuestro trabajo.

A nuestros padres por su apoyo y sacrificio por hacer de nosotros mejor personas

Magister Iván Enrique Paz Narvárez por su orientación, asesorías y acompañamiento en el desarrollo del presente trabajo.

A nuestros hermanos, hermanas y familia por acompañarnos de corazón.

A José Luis Hoyos, por su colaboración y desinteresado apoyo.

A nuestros compañeros de carrera que nos brindaban su apoyo incondicional.

A nuestros amigos por su apoyo

A todos gracias.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	14
1. MARCO TEÓRICO	15
1.1 CAFÉ	15
1.1.1 Taxonomía del café	15
1.1.2 Labores culturales	16
1.2 LAS ARVENSES EN EL CAFÉ	17
1.2.1 Concepto de maleza	17
1.3 CONTROL DE ARVENSES	18
1.3.1 Control mecánico o manual de arvenses	18
1.3.2 Control químico de arvenses	18
1.3.3 Factores para obtener un buen control de arvenses	18
1.4 HERBICIDAS	19
1.5 GLIFOSATO	20
1.6 PARAQUAT	22
1.6.1 Desactivación del Paraquat en el suelo	24
1.7 BIODEGRADACIÓN DE LOS HERBICIDAS	24
1.8 EFECTO DE LOS HERBICIDAS SOBRE LOS MICROORGANISMOS	27
1.9 RIZÓSFERA	28
1.9.1 Microorganismos del suelo	29
1.9.2 Biomasa Microbiana (BM)	29
1.9.3 Respiración microbiana en la rizosfera	30

	pág.
2. METODOLOGÍA	32
2.1 LOCALIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO	32
2.2 SELECCIÓN DEL LOTE	32
2.3 DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS	33
2.4 PROCEDIMIENTO EN CAMPO	33
3. RESULTADOS	36
3.1 CLIMATOLOGÍA	36
3.2 EFECTO DEL CONTROL QUÍMICO DE ARVENSES	38
3.2.1 Sobre la respiración en la rizosfera	38
3.2.2 Sobre la biomasa microbiana	41
3.3 TENDENCIAS DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA A TRAVÉS DEL TIEMPO	43
3.3.1 Tendencia de la respiración en suelo sin arvenses (SSOLO)	43
3.3.2 Tendencia de la biomasa microbiana (BM) en suelo solo	44
3.3.3 Tendencia de la respiración en tratamientos con aplicación de herbicidas	45
3.3.4 Tendencia para BM en tratamientos con .aplicación de herbicida	47
3.3.4.1 Tendencia de la BM en tratamientos con aplicación de Glifosato	47
3.3.4.2 Tendencia de la BM en tratamientos con aplicación de Paraquat	49
4. CONCLUSIONES	51
5. RECOMENDACIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS	64

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Los herbicidas más utilizados en el cultivo de café	20
Tabla 2. Principales arvenses encontradas en el lote experimental	35

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Estructura química del Glifosato	21
Figura 2. Estructura química del Paraquat	22
Figura 3. Metabolitos primarios y predominantes de la degradación microbiana en suelo: glioxilato y ácido aminometilfosfórico (AMPA)	26
Figura 4. Ubicación geográfica de la vereda La Rejoya	32
Figura 5. Distribución de las parcelas experimentales	33
Figura 6. Delimitación de las parcelas y representación del área de muestreo	34
Figura 7. Esquema de origen de las parcelas donde se llevó a cabo la investigación	35
Figura 8. Promedio de las precipitaciones en mm, durante el periodo de investigación comprendido entre Febrero y Junio de 2011	36
Figura 9. Promedio de Temperatura ambiente para el periodo febrero-junio de 2011	37
Figura 10. Promedio de humedad del suelo en las parcelas experimentales	37
Figura 11. Comportamiento de la Respiración en la rizosfera de las arvenses $\mu\text{g}(\text{C}-\text{CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$ en el mes de febrero (primer muestreo)	38
Figura 12. Comportamiento de la respiración $\mu\text{g}(\text{C}-\text{CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$ para el mes de marzo (segundo muestreo)	39
Figura 13. Valores de la biomasa microbiana ($\mu\text{g C/gss}$) previo a la aplicación de herbicidas	41
Figura 14. Efecto del control químico de arvenses sobre la biomasa microbiana	42
Figura 15. Comportamiento de la respiración microbiana (C proveniente del CO_2) para suelo solo	44
Figura 16. Comportamiento de la biomasa microbiana ($\mu\text{gC/gss}$) para suelo solo	45
Figura 17. Comportamiento de la respiración ($\mu\text{g}(\text{C}-\text{CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$) para los meses Marzo – Abril	45

	pág.
Figura 18. Comportamiento de la respiración $\mu\text{g}(\text{C-CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$, en el periodo Abril-Junio (tercer - quinto muestreo)	46
Figura 19. Tendencia de la biomasa microbiana ($\mu\text{g C/gss}$) en los tratamientos con Glifosato y testigos sin aplicación	48
Figura 20. Tendencia de la biomasa bajo aplicación de Paraquat y testigos sin aplicación	49

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Método para la determinación de respiración en el suelo (C-CO ₂)	64
Anexo B. Estimación de la biomasa microbiana, en función del carbono microbiano. (Método de fumigación – extracción, CIAT, Akasawua N, 2001)	66
Anexo C. Prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$) para promedios de actividad biológica	68
Anexo D. Prueba de Duncan ($\alpha= 0.05$) para promedios de biomasa microbiana	69
Anexo E. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Febrero (primer muestreo) para respiración microbiana	70
Anexo F. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Marzo (segundo muestreo) para respiración microbiana	71
Anexo G. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Abril (tercer muestreo) para respiración microbiana	72
Anexo H. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Mayo (cuarto muestreo) para respiración microbiana	73
Anexo I. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Junio (quinto muestreo) para respiración microbiana	74
Anexo J. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Febrero (primer muestreo) para biomasa	74
Anexo K. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Marzo (segundo muestreo) para biomasa	76
Anexo L. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Abril (tercer muestreo) para biomasa	77
Anexo M. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Mayo (cuarto muestreo) para biomasa	78
Anexo N. Análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para el muestreo del mes de Junio (quinto muestreo) para biomasa	79
Anexo O. Correlaciones entre variables evaluadas con respecto a precipitación y humedad del suelo	80

RESUMEN

En el estudio realizado se evaluó el efecto del control químico de las arvenses asociadas al cultivo del café, sobre la biomasa microbiana en la finca la Rejoya propiedad de la Universidad del Cauca, ubicada en la vereda del mismo nombre en el municipio de Popayán, capital del Departamento del Cauca, donde se establecieron 21 unidades experimentales distribuidas en siete tratamientos con tres repeticiones bajo un diseño en bloques completos al azar; los tratamientos evaluados fueron suelo sin maleza (SSOLO), suelo con maleza de hoja ancha (MHAn), suelo con maleza gramínea (MG), suelo con maleza de hoja ancha más Glifosato, herbicida sistémico (MHAn+G), suelo con maleza gramínea más Glifosato (MG+G), suelo con maleza de hoja ancha más Paraquat, herbicida de contacto (MHAn+PQ) y suelo con maleza gramínea más Paraquat (MG+PQ).

Los resultados indicaron la tendencia de incrementar la actividad biológica en función de la respiración y la biomasa para el efecto de la aplicación de los herbicidas, mostrando valores superiores en los tratamientos con aplicación de herbicidas con respecto a los testigos sin aplicación, atribuyendo esto a que los herbicidas actuaron posiblemente como sustrato para los microorganismos del suelo y éste hizo que se aumentaran sus poblaciones.

Con respecto a la tendencia después de la aplicación, se observó que la respiración y la biomasa dependen en gran medida de las condiciones climáticas y del estado fenológico de las plantas.

Palabras claves: Respiración, Biomasa, Arvenses, Herbicidas.

SUMMARY

In the study was valued the effect of chemical control of weeds associated with coffee plants on microbial biomass in the Rejoya farm owned by the University of Cauca, located in the village the municipality of Popayán, Department of Cauca, where 21 experimental units were established in seven treatments with three repetitions in a design in a complete block randomized and treatments were weed-free soil (SSOLO), soil with broadleaf weeds (MHAn), soil weedy grass (MG), soil with more broadleaf weeds Glyphosate, systemic herbicide (MHAn+G), ground grass weeds more Glyphosate (MG + G), soil broadleaf weed more Paraquat contact herbicide (MHAn+PQ) and brushy ground more Paraquat (MG + PQ).

The results indicated a tendency to increase biological activity in terms of respiration and biomass for the effect of herbicide application, showing higher values in treatments with herbicide application with respect to witnesses without attributing, it to apply herbicides possibly act as a substrate for soil microorganisms and this led to increased populations of the same.

With regard to the trend after the application was observed that respiration and biomass are highly dependent on climatic conditions and plant growth stage.

Keywords: Respiration, Biomass, weeds, herbicides.

INTRODUCCIÓN

El control de arvenses es sin duda uno de los aspectos más importantes en la producción vegetal, debido a que pueden interferir en los rendimientos de las plantas cultivadas. La gran diversidad de arvenses en el agroecosistema de café; cobija 170 especies de arvenses de ocurrencia en nuestro país. El control de ellas demanda 36 jornales/año/ha promedio, representando el 30% del costo total de producción. De estas especies el 45% interfieren en alto grado, el 35% en grado medio y el 20% en grado bajo con las producciones del cultivo (Gómez y Rivera, 1987).

Desde la revolución verde la utilización de insumos químicos, como los fertilizantes y pesticidas, se convirtió en el mejor modelo de producción, debido a que mostró resultados efectivos al momento de producir, pero en los últimos años ha sido duramente cuestionado por los perjuicios ecológicos y económicos que plantea el uso indiscriminado de este tipo de químicos. Debido a la imposibilidad de realizar un control mecánico en los sistemas agrícolas, con frecuencia el uso del control químico se incrementa, estos son agentes químicos que usados adecuadamente pueden ayudar al agricultor a disminuir los costos de producción en su cultivo así como a la alta efectividad en el control de arvenses, aunque cuando se usan de forma irracional pueden generar modificaciones en la composición de especies de arvenses presentes en los cultivos haciendo más difícil su erradicación; como también pueden contribuir a la erosión y al desgaste de los suelos, desde el punto de vista físico, químico y biológico.

Debido al alto uso de insumos químicos en la agricultura y en las posibles consecuencias que tienen sobre la actividad microbiana en suelo rizosférico a nivel de campo, y que este último es considerado un parámetro clave en la determinación de la calidad biológica del suelo y para efectos del presente estudio se tomará como el reflejo benéfico o nocivo que ocasiona el uso de plaguicidas en el control de hiervas indeseables dentro del cultivo de café (*Coffea arabica*) sobre la actividad microbiana del suelo.

Los objetivos que se plantean dentro de este trabajo consisten en determinar el efecto del control químico de arvenses asociadas al cultivo de café sobre la actividad biológica existente en su rizosfera y la tendencia de la misma a través del tiempo, en la finca La Rejoya ubicada en la vereda La Rejoya, municipio de Popayán (Cauca).

1. MARCO TEÓRICO

1.1 CAFÉ

Se trata de un arbusto siempre verde originario de Etiopía. El cafeto arábigo (*Coffea arabica*) es la principal especie cultivada para la producción de café. Esta planta alcanza los 12 metros de altura en estado silvestre, reconocible por sus hojas simples, opuestas y con estípulas frecuentemente bien desarrolladas. Sus flores son pequeñas, tubulosas y blancas. El fruto es una ciruela con dos nueces y con pulpa azucarada. Los frutos de *C. arabica* contienen menos cafeína que otras especies cultivadas comercialmente.

El café es sin duda, uno de los cultivos que se encuentra ampliamente distribuido en los países intertropicales y sub tropicales. Los granos del café son uno de los principales productos de origen agrícola que se comercializa en el país, ocupando así el 4% del PIB total así como a la generación de divisas y al desarrollo rural del país al generar 1.400.000 empleos directos (Paz, 2006).

Las regiones cafeteras de Colombia, delimitadas entre la latitud Norte 1° a 11°15', Longitud Oeste 72° a 78° y rangos específicos de altitud que pueden superar los 2.000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.). Surge de la particular combinación de diversos factores correspondientes a la latitud y altitud de la tierra del café en Colombia, sus suelos, el origen botánico de la especie y variedades de café producidas, el clima caracterizado por el doble paso de la Zona de Convergencia Intertropical, la cambiante topografía, la luminosidad, rango favorable de temperaturas, una adecuada cantidad y distribución de las lluvias durante el año y unas prácticas culturales comunes que incluyen procesos de recolección selectiva y de transformación del fruto mediante su beneficio, lavado y secado. Estos factores, de manera conjunta, conducen a la producción de un café sobresaliente, suave, de taza limpia con acidez relativamente alta, cuerpo balanceado, aroma pronunciado y un perfil sensorial de excelente calidad (FEDECAFE, 2010).

1.1.1 Taxonomía del café. El café pertenece a la familia de las Rubiáceas y al género *Coffea*. Existen numerosas especies de cafeto y diferentes variedades de cada especie. Las especies más importantes comercialmente pertenecientes al género *Coffea*, son conocidas como *Coffea arabica* Linneo (conocida como Arábica o Arábica) y *Coffea canephora* Pierre Ex Froehner (conocida como Robusta) (FEDECAFE, 2010).

De acuerdo con FEDECAFE (2010), esta familia tiene características fáciles de reconocer: las **hojas** salen en pares. No tienen divisiones y los bordes son lisos. En las flores están los órganos de los dos sexos, son flores hermafroditas. Generalmente cada fruto tiene dos semillas; la **raíz** es un órgano de mucha importancia; a través de ella la planta toma el agua y los nutrientes necesarios para su crecimiento y producción. En la raíz se acumulan sustancias que más tarde van a alimentar las hojas y los frutos, además, hacen que el árbol permanezca anclado y en su sitio.

El cafeto tiene una raíz principal que penetra verticalmente en suelos sin limitaciones físicas, hasta profundidades de 50 centímetros. De esta raíz salen otras raíces gruesas que se extienden horizontalmente y sirven de soporte a las raíces delgadas o absorbentes, llamadas también raicillas. Las raíces absorbentes del cafeto son bastante superficiales y se encargan de tomar el agua y los nutrientes minerales. En los primeros diez centímetros de profundidad del suelo se encuentran un poco más de la mitad de estas raicillas y el 86% en los primeros 30 centímetros.

La hoja es un órgano fundamental en la planta porque en ella se realizan los procesos de fotosíntesis, transpiración y respiración. En las ramas, un par de hojas aparece cada 15 ó 20 días aproximadamente. Estas duran en un cafetal alrededor de un año. La duración de las hojas se reduce con la sequía, con las altas temperaturas y con una mala nutrición.

Las **flores** del cafeto aparecen en los nudos de las ramas, hacia la base de las hojas, en grupos de 4 o más, sobre un tallito muy corto llamado glomérulo. En la base de cada hoja hay de 3 a 5 glomérulos.

La fecundación de la flor ocurre cuando un grano de polen se pone en contacto con el óvulo. Si éste recibe el polen de la misma flor, se da la autofecundación. En el cafeto la autofecundación es un poco mayor del 90%.

La **semilla** se compone de dos partes: Almendra y Pergamino; la Almendra es dura y de color verdoso, está cubierta de una película plateada cuando está seca, y del embrión que es una planta muy pequeña que está dentro de la almendra y se alimenta de ella en los primeros meses de desarrollo de la planta. La parte roja o amarilla del fruto maduro se conoce con el nombre de pulpa, protegiendo la semilla, hay una cubierta llamada pergamino que está cubierta de una sustancia azucarada que es el "mucílago" o "baba". Al café seco se le denomina pergamino.

1.1.2 Labores culturales. Dentro del cultivo de café se desarrollan una serie de prácticas de uso común dentro del ciclo productivo, que comprenden todo tipo de labores que permiten la óptima germinación, plantación o siembra, desarrollo y cosecha del producto final, tanto así como la preparación del mismo para su comercialización, dentro de las cuales se destacan fertilización, control de plagas y enfermedades, riego, podas y el manejo de arvenses.

El manejo de arvenses implica el uso de todas aquellas prácticas, medidas, herramientas y productos tendientes a limitar la infestación de arvenses hasta un grado tal que no afecte o interfiera económicamente con la producción agrícola en un área determinada.

Gómez *et al.*, (1995) reportan que el control convencional de arvenses en cafetales constituye una inversión del 17% al 22% dentro de los costos de producción de café.

Otras estimaciones muestran que los costos del manejo convencional de las arvenses, en las cuales se desnuda el suelo totalmente (control químico, control mecánico con azadón, machete o guadaña) oscilan entre el 16% y el 20% así mismo, Gómez *et al.*, encontraron que es más económico y sostenible, hacer un manejo con herbicidas por parches frecuentes, con el fin de eliminar aquellas arvenses que compitan con el cultivo, que realizar controles generales, ya que estos últimos, además de dejar el suelo totalmente desnudo, demandan mano de obra adicional debido a la mayor incidencia de arvenses agresivas y a que es necesario plateos más intensos y frecuentes y descope de las arvenses muy altas.

En cuanto al manejo integrado de arvenses en café, Duque (2001) estimó que los costos representan el 13% de los costos totales de producción y Rivera (1999), reporta que con la implementación del manejo integrado de las arvenses puede disminuirse hasta en un 85% el costo del control de arvenses en cafetales, a través del tiempo.

1.2 LAS ARVENSES EN EL CAFÉ

1.2.1 Concepto de maleza. La definición de arvenses es difícil debido a que la percepción de si una planta es maleza o no, es subjetiva. En muchas definiciones una planta es llamada maleza dependiendo de las circunstancias en las cuales está creciendo; Pitty, (1997) define a las arvenses como plantas que son ajenas al cultivo que se está explotando y que de una u otra forma alteran los rendimientos del mismo.

Las arvenses son causantes de innumerables daños a los cultivos que repercuten en el rendimiento de estos, disminuyendo así la ganancia de los productores. Entre los principales daños destaca el causado por el efecto que ocasiona la interferencia, constituida por la alelopatía y alelospolia (competencia), así como también como su capacidad de hospedar insectos y algunos patógenos causantes de enfermedades, además de interferir en las labores de cosecha, dependiendo del tipo de maleza presente en las áreas cultivadas (Mejía y Caripe, 2002).

Con el motivo de contrarrestar los efectos negativos que ocasionan las arvenses, es necesario implementar adecuadamente diferentes métodos de control para disminuir las densidades de las poblaciones de plantas no deseables, para de esta forma evitar o reducir al mínimo los inconvenientes ocasionados por ellas. Antes de iniciar cualquier tipo de control sobre las arvenses lo más importante es determinar el tipo de éstas que se encuentran en el cultivo, de esta forma tomar la decisión sobre el tipo de control más adecuado que se debe llevar a cabo, con el fin de reducir el impacto sobre el suelo y sus componentes.

Las especies de arvenses más serias en el cafeto, a nivel mundial son: *cinodon dactylon*, *Cyperus rotundus*, *Digitaria scalarum*, *Imperata cylindrica*, especies de *Amaranthus*, *Bidens pilosa* y *Galinsoga parviflora*. Otras especies comunes en cafetales son: *Eleusine*

indica, *Dactyloctenium aegyptium* y *Digitaria sanguinalis*, además se encuentran especies de *Paspalum*, *Pennisetum clandestinum*, *Portulaca oleracea*; especies de *Commelina*, *Solanum nigrum* y *Ageratum conyzoides* (Nishimoto, 1992).

1.3 CONTROL DE ARVENSES

El control de las malas hierbas presentes en los cultivos es esencial para un éxito en la producción agrícola. El manejo de las poblaciones de arvenses puede ser planificado y estructurado integrando tácticas de control que incluyen la aplicación de múltiples tecnologías. Dentro los métodos de control, se encuentra el Control mecánico o manual de arvenses y el control químico, este último se realiza a través del uso de sustancias químicas denominadas herbicidas.

1.3.1 Control mecánico o manual de arvenses. El control mecánico es el sistema que utiliza herramientas o maquinarias especializadas. El más común es el que se hace mediante la deshierba manual utilizando machete (rozar) y azadón o pala, este tipo de control ha producido severas pérdidas de suelo, que conlleva a la pérdida de la fertilidad del suelo (Basnayake, 1986) y efectos adversos sobre sus propiedades físicas, como disminución de la fracción limo-arcilla, de la capacidad de intercambio catiónico, del contenido de carbono orgánico y de su agregación (Anandacoomraswamy *et al.*, 1986). Con la extracción física de las arvenses de los campos también se pierden nutrientes para el cultivo principal, producto de la descomposición de las mismas, por parte de los microorganismos (Wettasinghe, 1972; Ekanayake, 1992).

Guharay *et al.* (2000), mencionan que las prácticas de control de malas hierbas muchas veces provocan daño a los cafetos, los machetazos accidentales en los tallos de los arboles pueden dejar entrar enfermedades y debilidad en los cafetos.

1.3.2 Control químico de arvenses. El control químico de las arvenses consiste en el uso de herbicidas para poder reducir el crecimiento y la población de arvenses, sin causar perjuicio al cultivo (Mata *et al.*, 1986). Para ello se debe tener en cuenta el tipo de maleza, su estado de desarrollo al momento de aplicación, las condiciones ambientales y las características del cultivo. La revolución tecnológica en el cultivo del café en Colombia, permitió introducir este tipo de control, como solución a los problemas que provocaban las arvenses y el control mecánico en el cultivo de café, especialmente los problemas de índole económica. Mata *et al.* (1986) encontraron que la utilización de Paraquat + 2,4-D con tres aplicaciones mostraron excelentes respuestas al igual que Terbutilazina con Glifosato en el control de arvenses en plantaciones de café.

1.3.3 Factores para obtener un buen control de arvenses. Según López y San Juan (1991), para obtener un buen control de arvenses se debe tener en cuenta usar el herbicida apropiado, que las arvenses no estén muy crecidas, 15-25cm, que la operación de aplicación sea muy cuidadosa, por ello, se debe aplicar bajo condiciones adecuadas

del ambiente y del suelo y tener una buena cobertura del herbicida sobre las arvenses. Se debe evitar la aplicación de herbicidas cuando hay alta temperatura (más de 30°C), porque los herbicidas se vuelven fitotóxicos para el café y la actividad de las arvenses disminuye, reduciendo el efecto de traslocación del herbicida (Anacafé, 1998)

Según Pitty (1997), la mayoría de los factores que provocan una reducción en la eficiencia de los herbicidas pueden ser superadas aumentando el volumen de agua, mejorando la cobertura al cambiar el tipo de boquilla, aumentando la dosis del herbicida o añadiendo aditivos que permitan mejorar las características de la solución y la absorción del herbicida.

1.4 HERBICIDAS

Los herbicidas son productos fitosanitarios utilizados para controlar especies no deseadas por su impacto negativo en la producción y rendimientos. Por definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los productos fitosanitarios son aquellas sustancias o mezcla de sustancias, destinadas a prevenir la acción de controlar o destruir directamente arvenses, insectos, hongos, ácaros, moluscos, bacterias, roedores y otras formas de vida animal o vegetal que puedan resultar perjudiciales tanto para la salud pública como para la agricultura, donde estas especies son consideradas plagas durante la producción, el almacenamiento, el transporte, distribución y elaboración de productos agrícolas y/o sus derivados.

También se consideran productos fitosanitarios a aquellos que cumplen una función defoliante y/o desecante, y a las sustancias reguladoras del crecimiento, o fitoreguladores. La utilización de productos fitosanitarios permite la sanidad vegetal y el aumento en los rendimientos de producción a niveles que no podrían alcanzarse dada la actual demanda de materias primas y alimentos tanto para consumo humano como animal (Casafe, 2010).

No existe una única clasificación de herbicidas, ya que los mismos pueden ser agrupados según su naturaleza química, su mecanismo de acción, el momento de aplicación, etc. Cabe aclarar también que un mismo herbicida, puede ser englobado en diversas categorías de clasificación. Casafe (2010): propone clasificar los herbicidas en:

Selectivos: aquellos que controlan un objetivo, preservando el cultivo de interés económico.

Totales: generalmente utilizados para limpieza de terrenos donde se controlan todas las especies existentes, sin discriminación.

Residuales: persisten en el suelo controlando la nacencia de arvenses provenientes de semillas de especies anuales, al impedir su germinación. Normalmente no son activos sobre especies perennes que rebrotan a partir de rizomas, bulbos o estolones.

Pre-emergentes: se aplican antes de la nacencia del cultivo.

Post-emergentes: se aplican después de la nacencia del cultivo, estos tienen que tener actividad en el follaje, pero también pueden tener actividad en el suelo, estos, deben tener suficiente cobertura de arvenses para permitir que absorban suficiente herbicida. (Pitty, 1997).

Los herbicidas post-emergentes como Paraquat y Glifosato se usan ampliamente en este tipo de control. Paraquat defolia virtualmente a todas las especies de arvenses, pero glifosato es más útil donde las arvenses perennes, especialmente gramíneas y ciperáceas, son un problema (Nishimoto, 1992).

Sistémicos: se aplican sobre la planta, pero actúan a distancia, al ser traslocado hasta raíz mediante el floema.

De contacto: se aplican sobre la planta actuando localmente en la superficie, sin necesidad de ser traslocado (Casafe, 2010).

De acuerdo con CASAFE (1998), en la tabla 1, se observan los herbicidas más utilizados en el control de arvenses en el cultivo de café.

Tabla 1. Los herbicidas más utilizados en el cultivo de café

Nombre Técnico	Nombre Comercial	Acción	Maleza que Controla
2,4-D amina	Hedonal, Dicloropop	Decamina, Hormonal	Hoja Ancha
Paraquat	Gramoxone	Contacto	Gramíneas, Hoja Ancha
Glifosato	Round-up, Rival, Fiero, Ranger	Sistémico	Gramíneas, Hoja Ancha, Ciperáceas
Alachlor	Lazo, Disaclor	Contacto	Gramíneas, Hoja Ancha
Oxifluorfen	Goal, Koltar	Contacto	Gramíneas, Hoja Ancha
Paraquat+Diuron	Gramuron X	Sistémico	Gramíneas, Hoja Ancha
Fluazifop butil	Fusilade	Sistémico	Gramíneas
Diquat-Paraquat	Preglone	Contacto	Gramíneas, Hoja Ancha

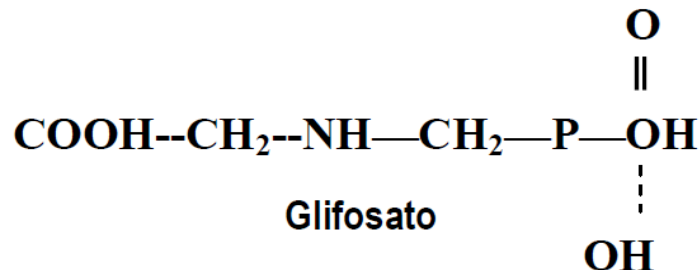
Fuente. ANACAFÉ, 1998.

1.5 GLIFOSATO

El glifosato es un derivado del aminoácido glicina, con ácido fosfórico unido al radical amino, su principal metabolito es el ácido aminometilfosfónico (AMPA) El glifosato en sí mismo es un ácido pero frecuentemente es utilizado en forma de sal, más comúnmente como sal de isopropilamina. Las sales más utilizadas son la isopropilamina de glifosato e isopropilamina de N-(fosfometil) glicina. Los perfiles toxicológicos del glifosato y del

AMPA son similares y se considera que ambos presentan una toxicidad baja (Martino, 1995). En la figura 1, se observa la estructura química del glifosato.

Figura 1. Estructura química del Glifosato



Fuente. Martino, 1995.

El Glifosato es una solución líquida, clara, viscosa y de color ambarino; normalmente tiene una concentración de iones H de 4,4 a 4,9 y una gravedad específica de 1,17. Prácticamente inodoro o con un ligero olor a amina; tiene un peso molecular de 169,08 y un punto de fusión de 200°C.

El Roundup® es la presentación comercial, este contiene 36% de equivalente ácido y 48% de equivalente sal (Martino, 1995). Es un herbicida que por su composición química no es capaz de atravesar las cutículas foliares y membranas celulares hidrofóbicas de las arvenses, por esta razón las formulaciones comerciales contienen un agente surfactante, que ayuda a superar dichas barreras. Varias investigaciones sugieren que los efectos tóxicos vinculados con el Roundup® no provienen de su componente activo, el glifosato, sino de uno de sus surfactantes: polioxietil- amina (POEA) (Burger *et al.*, 2004).

Se caracteriza por ser sistémico y no selectivo, que actúa en la vía del ácido shikímico, inhibiendo la formación de tres aminoácidos aromáticos esenciales, fenilalanina, tirosina y triptófano. Aplicado al follaje de las arvenses es muy efectivo en el control de anuales y perennes ya que por sus características físico-químicas, tiene gran movilidad por los tejidos conductores, hacia los órganos de crecimiento y almacenamiento. Esto, sumado a su lenta actividad hace que sea ideal para el control de arvenses perennes que presentan estructuras subterráneas de rebrote, como rizomas y tubérculos. Al tomar contacto con el suelo, se inactiva rápida y fuertemente a los sitios de adsorción de fosfatos, lo que impide su lixiviación y su residualidad. Es degradado por microorganismos del suelo y presenta una vida media de 47 días. Su excesivo uso a nivel mundial y nacional ha influido en la aparición de poblaciones resistentes. En Chile hay reportes de resistencia en *Lolium multiflorum* y *L. rigidum*. (Kogan, M. y Pérez, 2003.).

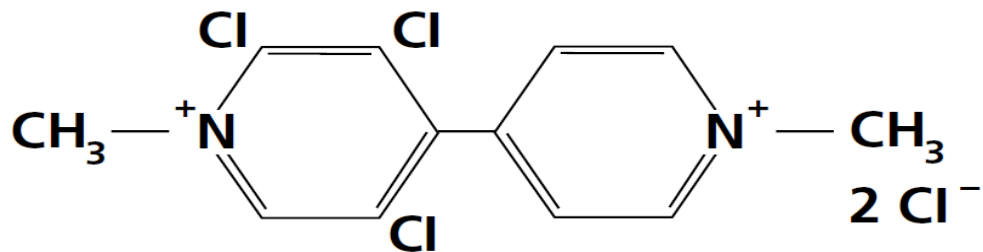
Por la naturaleza de sus propiedades físicas y químicas el Glifosato es un plaguicida perteneciente al grupo de los herbicidas de acción sistémica, por la vía del follaje. No es apto para tratamientos de control de arvenses por la vía del sistema radicular.

Este es un herbicida simple, no selectivo, de amplio espectro (toda planta que reciba por lo menos un 20% de éste es controlada), de naturaleza post-emergente (post nacimiento), con actividad sistémica en las plantas.

1.6 PARAQUAT

El Paraquat es una sustancia química sintética utilizada como herbicida. Su nombre científico es: Dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo (del catión) su nombre común y comercial es Paraquat que representa al catión únicamente. Su peso molecular es de 186.2g. para el catión y de 257.2g. para la sal diclorada. Es un sólido blanco cristalino (sal pura), higroscópico y su olor es tenue amoniacal. Es uno de los herbicidas más usado para combatir las arvenses (actúa por contacto y por translocación). En su presentación comercial el Paraquat es un líquido oscuro altamente soluble en agua pero poco volátil (Rojas, 1984). Bajo condiciones adecuadas de almacenamiento, este producto se conserva indefinidamente.

Figura 2. Estructura química del Paraquat



Fuente. Gibson y Cagen, 1977.

La sal del Paraquat no formulada es corrosiva a metales comunes, ya diluida no presenta peligro potencial para los equipos de aplicación. La formulación comercial no es inflamable por ser una solución acuosa. Es rápidamente inactivo en contacto con el suelo, pero cuando se fija a él es muy persistente, aunque biológicamente no es aprovechable. Su vida media (periodo transcurrido para que la mitad de un plaguicida en el suelo sea degradado microbiológicamente) es de 10 años aproximadamente.

El Paraquat es un herbicida que se absorbe rápidamente por las hojas pues es un lapso de 30 minutos sin lluvia después de ser aplicado basta para asegurar su penetración (García y Fernández, 1991). Requiere de luz, oxígeno molecular y clorofila para ejercer su acción fitotóxica dentro de la planta. El Paraquat actúa como un "ladrón de electrones" en el Fotosistema I mediante la desviación de los electrones de la cadena de transporte electrónico normal. Paraquat directamente transfiere los electrones del fotosistema I al oxígeno formando superóxido (O_2^-). El superóxido es un radical libre que reacciona con las membranas de los cloroplastos para producir fugas y conduce a la pérdida rápida de la actividad de los cloroplastos. (Bowyer y Camilleri, 1987; Ashton y Crafts, 1981). Síntomas característicos de su aplicación son la presencia de manchas verde oscuro en las hojas

poco tiempo después de haber entrado en contacto con los tejidos; luego las manchas se transforman en zonas parcialmente desecadas volviéndose necróticas sucediendo por último la muerte de las hojas (García y Fernández, 1991; Ashton y Crafts, 1981).

A nivel celular ocurre pérdida de la integridad de la membrana de las células y de cloroplastos, dándose un escape de componentes plasmáticos que conducen a una desorganización de los tejidos y de la muerte de la hoja, (García y Fernández, 1991; Ashton y Crafts, 1981; Soto y Valverde 1991). Su transporte después de una aplicación foliar parece ser exclusivamente vía sistema apoplasto. Se da un transporte muy pobre hacia los brotes aéreos de la planta cuando se aplica a la raíz, aparentemente porque se absorbe a los constituyentes celulares del parénquima cortical.

El transporte vía simplasto es mucho más limitado, debido a la restricción que impone su efecto dañino fulminante (Soto y Valverde 1991; García y Fernández, 1991; Ashton y Crafts, 1981). Debido a esta acción rápida se considera que este herbicida no es metabólicamente degradado en las plantas (Hatzios y Penner, 1985). A bajas intensidades de luz o en la sombra la actividad herbicida se alarga y los síntomas de intoxicación se alargan y se propagan con más suavidad (Fedke, 1982)

El mecanismo de acción del Paraquat se ejerce en la fase luminosa de la fotosíntesis que ocurre en los cloroplastos, y que es conocida como reacción de Hill. Se cree que el Paraquat actúa por competencia, sustituyendo a un transportador de electrones ubicado al inicio de la cadena de transporte del fotosistema I (por ejemplo ferredoxina u otro transportador cercano). (Bowyer y Camilleri, 1987; García y Fernández, 1991).

El mecanismo de acción primario de este herbicida involucra la formación de un radical libre por la reducción del ion Paraquat, al aceptar el electrón en la cadena; luego se auto oxida produciendo de nuevo el ion original, con el consecuente desvío de la ruta del electrón (Moreland, 1980; Ashton y Crafts, 1981; García y Fernández, 1991). Los radicales libres del Paraquat no son los causales directos del daño a los tejidos, sino los radicales producidos durante la auto oxidación del Paraquat tales como el H_2O_2 (peróxido de Hidrogeno), O_2^- (radical superóxido), radical Hidróxido (OH^-) y oxígeno en estado de excitación simple (1O_2), los cuales tienen una elevada capacidad de oxidación y causan grave daño a los tejidos (Moreland, 1980; Ashton y Crafts, 1981; García y Fernández, 1991).

Cuando se aplica en los campos, el Paraquat que cae en el suelo es rápida y fuertemente adsorbido por las partículas de tierra, especialmente las de arcilla. Estos residuos ligados a la tierra no pueden ser absorbidos por las plantas, las lombrices de tierra ni los microorganismos. Debido a esta característica, el Paraquat tiene una media vida larga en el suelo: desde 16 meses (estudios en laboratorio, condiciones aeróbicas) hasta 13 años (estudio de campo) (Wagner, 1983). En Costa Rica, se detectaron residuos de Paraquat en suelos de un cafetal donde no se aplicaba dicha sustancia desde hace tres años (U.S. Environmental Protección Agency, 1987).

1.6.1 Desactivación del Paraquat en el suelo. La mayor parte del Paraquat (cerca del 99%) es fuertemente absorbido en la tierra, donde queda relativamente estable y biológicamente inaccesible dejando concentraciones infinitamente pequeñas en la solución del suelo, que es la parte biológicamente activa del mismo. (Terry *et al.*, 2002)

Una metodología de laboratorio clave para medir el potencial impacto de los residuos de pesticida en el suelo es a través de bioensayos. Para el Paraquat, se ha desarrollado un bio-ensayo que esencialmente mide el impacto de la absorción a corto plazo por exposición a través de la solución del suelo para las raíces del trigo, ya que el trigo es uno de los cultivos más sensibles. En el bioensayo, la dosis que inhibe el crecimiento de las raíces del trigo en 50% queda determinada como nivel de prueba de Fuerte Capacidad de Absorción-Bioensayo del Trigo (Strong Adsorption Capacity-Wheat Bioassay) (SAC-WB). Luego se tratan los suelos con diferentes fracciones del nivel SAC-WB para determinar el potencial impacto sobre los organismos y vida del suelo bajo condiciones reales del campo.

Pruebas de larga duración llevadas a efecto en Fensham, Reino Unido, (de hasta 20 años) no indicaron ningún efecto adverso sobre los microorganismos y microartrópodos del suelo en niveles de hasta los valores de SAC-WB, equivalentes a varios cientos de veces la cantidad de Paraquat que normalmente se recomienda aplicar. En cuanto a las lombrices, sólo se observó impacto a más de 720 veces la cantidad normal de aplicación, pero sin ningún impacto con 100 veces la cantidad. La cantidad que puede estar en la tierra sin causar efectos varía según el tipo de suelo, a causa de las diferentes capacidades de absorción (Terry *et al.*, 2002). Pruebas similares de larga duración en los EUA, Australia, Malasia y otros sitios, en diferentes tipos de suelos y climas, dieron resultados similares. Dichas pruebas también incluyeron minerales fertilizantes como el potasio en altas concentraciones y se comprobó que aún esos cambios en la composición del suelo no podían afectar la estabilidad de la absorción del Paraquat en el suelo.

Estos experimentos establecen claramente la enorme capacidad de todo tipo de suelo para absorber el Paraquat y la falta de efectos del Paraquat absorbido sobre la vida del suelo durante un uso prolongado, puesto que trabaja tan rápidamente y es a prueba de agua. El Paraquat puede ser usado en condiciones húmedas con riesgo insignificante para los trabajadores agrícolas y sin ningún efecto adverso para el suelo ni para las aguas subterráneas. En la práctica, no constituye un riesgo para la vida acuática, incluido el follaje verde, en condiciones y cantidades normales de rociado (Terry *et al.*, 2002). Igualmente, puesto que trabaja en el follaje verde en el que se rocía, los sistemas de raíces de las malas hierbas quedan intactos. Esto es útil en las áreas en donde los cultivos agrícolas están en fuertes pendientes y donde la remoción física de las malas hierbas puede inducir a la erosión (Terry *et al.*, 2002).

1.7 BIODEGRADACIÓN DE LOS HERBICIDAS

La mineralización, o biodegradación completa de una molécula orgánica en agua y suelo es, la mayoría de las veces, consecuencia de la actividad microbiana. Pocos mecanismos abióticos de importancia en la naturaleza convierten totalmente compuestos orgánicos

con cierto grado de complejidad a productos inorgánicos, y el metabolismo microbiano de varias clases de compuestos sintéticos está caracterizado por la mineralización. Como consecuencia, la mineralización es típicamente un proceso ligado al crecimiento. La detoxificación es una consecuencia común de la mineralización excepto cuando uno de sus productos es peligroso para el ambiente, como es el caso del nitrato en ciertas aguas o el sulfuro bajo condiciones anaerobias (Alexander, 1981).

Según Alexander (1981), los microorganismos exhiben dos estrategias diferentes para la metabolización de los herbicidas que son el *catabolismo* y el *cometabolismo*. En el *catabolismo* el herbicida adsorbido es degradado en moléculas menores generando energía. Consecuentemente el número y la biomasa microbiana aumenta a costa del sustrato y este disminuye en forma considerable. En el *cometabolismo*, el pesticida es transformado por reacciones metabólicas pero no sirve como fuente de energía para los microorganismos, por lo tanto es necesario un sustrato secundario biodegradable como fuente de carbono y energía. Las poblaciones responsables de la transformación no se incrementan en número o biomasa como resultado de la introducción del químico en el agua o suelo. Esta ausencia del crecimiento es un reflejo de la incapacidad de los organismos de utilizar los compuestos químicos para la biosíntesis y es marcadamente contrastante con el aumento del tamaño de la población o biomasa cuando un sustrato mineralizable es introducido en el mismo ambiente.

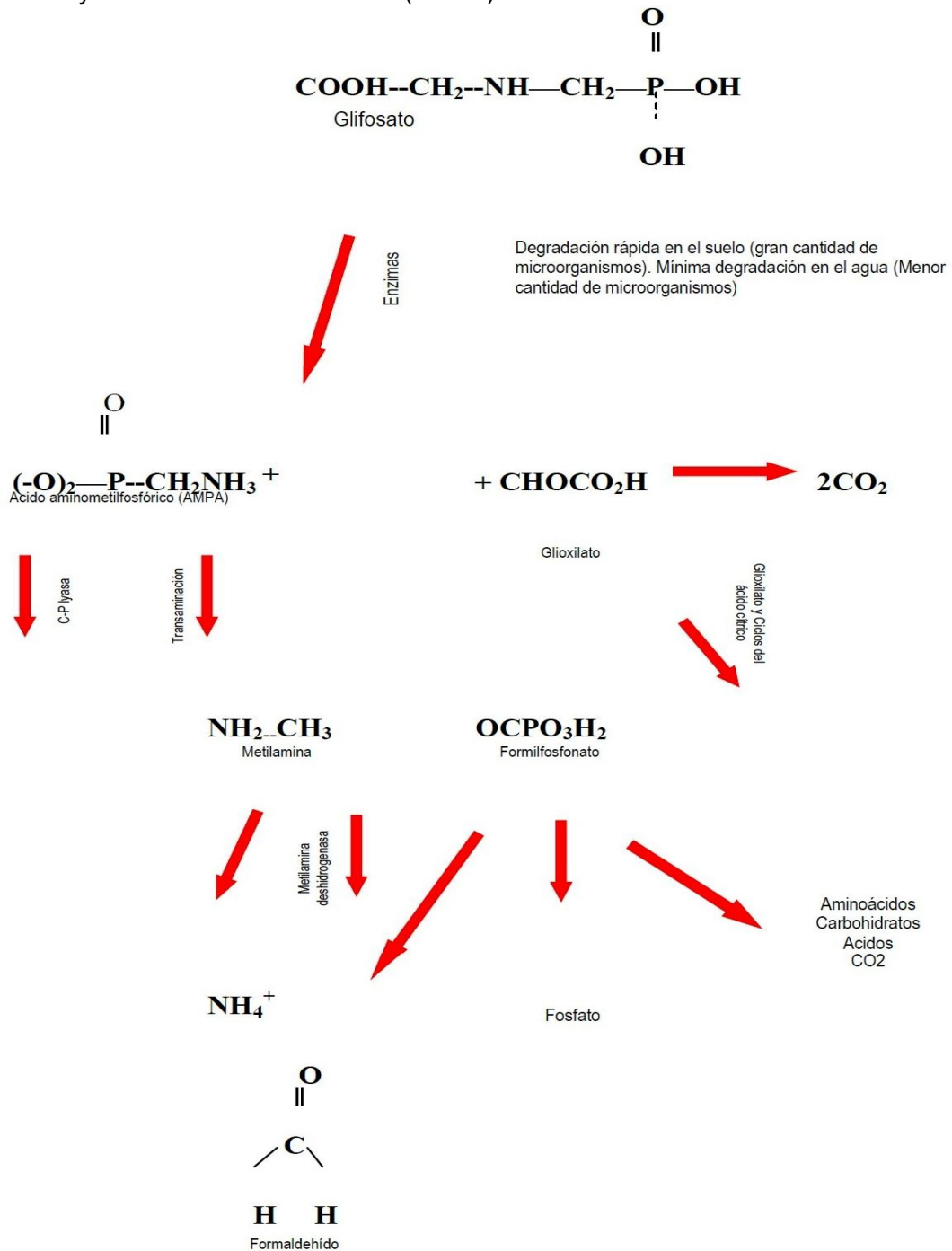
Como las poblaciones que actúan en algunos químicos sintéticos son normalmente pequeñas, el compuesto sujeto al cometabolismo se caracteriza por modificarse lentamente, y la tasa no se incrementa con el tiempo, en contraste con el sustrato en el cual actúa la mineralización. En el cometabolismo se asume que la población bacteriana se encuentra en un estado estacionario debido a la constante disponibilidad de pequeñas cantidades de sustrato para el crecimiento.

La degradación microbiana está fuertemente influenciada por la solubilidad en agua presente en los compuestos. Los compuestos con baja solubilidad en agua tienden a ser más resistentes a la degradación microbiana que aquellos de alta solubilidad. Los químicos que presentan baja solubilidad en agua no pueden proveer suficiente carbono para mantener el crecimiento microbiano. Bajas concentraciones ambientales del sustrato pueden resultar en una disminución en la tasa de penetración dentro de la célula y además pocas moléculas por unidad de tiempo para permitir suficiente energía para que el organismo se pueda mantener (Alexander, 1981).

Para mineralizar o crecer en sustratos que tienen baja solubilidad en agua, los microorganismos requieren algunas adaptaciones fisiológicas. La modificación de la superficie celular puede incrementar su afinidad por las sustancias hidrofóbicas y por lo tanto facilita su absorción (Nerufeld *et al.*, 1980, citado por Douglas *et al.*, 1991). Los organismos pueden crecer solamente a expensas de los compuestos disueltos en la solución. Por tanto la solubilidad en agua gobierna su degradación (Stucki y Alexander, 1987, citado por Douglas, *et al.*, 1991). Según Andrea *et al.*, (2003) los residuos de C14 de glifosato no-extractable, es de liberación lenta debido a su dependencia del ataque microbiano en la fracción del suelo.

Ghassemi *et al.*, (1981) concluyeron que en general la tasa de degradación del glifosato en el agua es más lenta que en el suelo porque existe menor cantidad de microorganismos en el agua que en la mayoría de los suelos (Figura 3).

Figura 3. Metabolitos primarios y predominantes de la degradación microbiana en suelo: glioxilato y ácido aminometilfosfórico (AMPA)



Fuente. Schuette, 1998.

1.8 EFECTO DE LOS HERBICIDAS SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Existen varios estudios que demuestran la interferencia del glifosato en los procesos de fijación de Nitrógeno, tanto en bacterias de vida libre como de bacterias que se establecen relaciones simbióticas con plantas. Este fenómeno también recogido por Hutchinson, (1995) y Forlani, *et al* (1995). Se ha descrito también una inhibición de la nodulación en raíces de trébol en suelos con niveles de glifosato de entre 2 y 2000 mg/Kg de glifosato. El efecto persistió 120 días después del tratamiento (Eberbach *et al*, 1983).

Se han hecho también estudios con bacterias nitrificantes de vida libre. Santos y Flores (1995) estudiaron los efectos del glifosato en la fijación de Nitrógeno en bacterias heterotróficas de vida libre. Encontraron que dosis de glifosato superiores a 4 Kg/Ha inhibe la fijación de Nitrógeno. El herbicida afectó también la respiración y causó una reducción en el tamaño celular.

La interferencia de glifosato en las relaciones entre hongos micorrícicos, nutrientes y plantas fue publicado por Wan *et al.*, en 1998. La relación micorrizal es una asociación simbiótica entre un hongo con las raíces de algunas plantas y árboles donde el micelio del hongo forma una estrecha cobertura tejida envolviendo las raicillas o hasta penetrando las células de las raíces. Esta relación provee un intercambio de nutrientes y agua que beneficia tanto a la planta como al hongo.

En una investigación hecha por un equipo canadiense dirigido por el científico M.T. Wan *et al.* (1991) se identificó el efecto nocivo del glifosato-en una concentración de tan sólo 1 p.p.m. en el hongo micorrícicos arbuscular-vesicular *Glomus intraradices*, reduciendo el crecimiento o la colonización de los hongos en raíces de zanahoria. Dado que muchas plantas no pueden crecer sin esta relación Micorrizal, éste es un efecto posible de las fumigaciones con glifosato que debemos considerar.

Domsch *et al.*, (1983), citados por Moreira y Siquiera (2002), analizaron un total de 48 estudios publicados para determinar el tiempo necesario para que la comunidad microbiana se recupere del estrés provocado por los pesticidas. Señalaron que en 30 casos analizados hubo una recuperación en menos de 30 días y que solamente en dos casos fueron necesarios más de 60 días para la recuperación del nivel original. Concluyeron que en general, los efectos de los pesticidas sobre la biota son de corta duración.

Carlise y Trevors (1986) demostraron que el glifosato puede estimular o inhibir los microorganismos del suelo dependiendo de la concentración del herbicida utilizada. Wardle y Parkinson (1990) y Hart y Brookes (1996) no observaron efectos en la biomasa microbiana y en la actividad. Las dosis de glifosato aplicadas en el ensayo fueron probablemente muy bajas para detectar los efectos mediante los métodos empleados.

En investigaciones realizadas a campo, el glifosato no afecta o produce una leve estimulación de los microorganismos del suelo. En tal sentido, se observaron incrementos en el número de bacterias y hongos (Rueppel *et al.*, 1977; Roslycky, 1982), en la respiración del suelo (Carlisle *et al.*, 1986; Haney *et al.*, 2000 ; Araújo *et al.*, 2003; Fernández, 2007), en la mineralización del C y del N (Haney *et al.*, 2000; Andrea *et al.*, 2003) y en algunas actividades enzimáticas (Gianfreda *et al.*, 1995; Araújo *et al.*, 2003, Fernández, 2007). Según Haney *et al.*, (2000) y Araújo (2003) inmediatamente después de la aplicación del glifosato se estimula la actividad microbiana del suelo, que lo degrada rápidamente, aún en presencia de altas dosis aplicadas sin afectar adversamente la actividad microbiana.

Feng *et al.*, (1990) detectaron una rápida degradación inicial del glifosato seguida de una más lenta, lo que se atribuyó a la acción inicial de los microorganismos sobre el glifosato libre y posterior ataque del herbicida adsorbido en el suelo. Dado que los herbicidas con una relación C/N < 15 (C/N del glifosato es de 3/1) presentan la potencialidad de mineralizarse fácilmente y que los microorganismos heterótrofos requieren C y N para su sobrevivencia y crecimiento, el glifosato puede ser el responsable del incremento inmediato de la actividad microbiana del suelo (Haney *et al.*, 2000).

Debido a los efectos que puede producir el uso de los herbicidas sobre los microorganismos del suelo, se debe tener en cuenta que la abundancia y diversidad de los mismos son extremadamente importantes en los procesos metabólicos del suelo (descomposición de la materia orgánica) y contribuyen a su fertilidad (Bromilow *et al.*, 1996), así como para las plantas con las que ejercen procesos de dependencia y asociaciones simbióticas básicamente en la zona de raíces.

1.9 RIZÓSFERA

La rizosfera se define como un volumen de suelo que es adyacente e influenciado por la raíz de la planta (Bolton *et al.*, 1993). Es un hábitat complejo que varía en tiempo y espacio; difiere del resto del suelo en sus propiedades biológicas, químicas y físicas (Kerry, 2000). Esta zona del suelo alrededor de la raíz es dinámica ya que en ella está presente una intensa actividad microbiana y grandes poblaciones de microorganismos que interactúan en esa localidad física, debido a la liberación de compuestos orgánicos como polisacáridos y aminoácidos (Grayston *et al.*, 1998).

Entre un 10 % y un 30 % del carbono asimilado por las plantas es liberado a la rizosfera, dando soporte a la actividad microbiana que generalmente es mayor que en el resto del volumen de suelo. Se considera que hay un 60% de bacterias y un 12 % de hongos en la rizosfera (Kerry, 2000). La determinación cuantitativa de la cantidad de microorganismos presentes en la rizosfera es útil para el estudio de la ecología y el ciclo de nutrientes. El estudio de la microflora del suelo provee información sobre las actividades metabólicas de todos los constituyentes del suelo, cómo se afecta el crecimiento de la planta y el crecimiento y la función de otros microorganismos (Bolton *et al.*, 1993).

1.9.1 Microorganismos del suelo. El suelo es el elemento más poblado de microbios debido a que es un medio que permite el desarrollo de una gran variedad de microorganismos, estos cumplen múltiples funciones importante en la fertilidad y por lo tanto en la productividad.

La mayoría de los efectos benéficos de los microorganismos del suelo sobre las plantas, se debe a la su influencia positiva sobre la nutrición de éstas. Hay diversos mecanismos por los cuales los microorganismos favorecen la nutrición de las plantas, entre los que se puede destacar los siguientes: suministro casi directo de nutrimentos, como en algunas modalidades el proceso de fijación de N_2 , con lo cual se mejoran las cualidades químicas del suelo; aumento de la capacidad de las raíces de la planta para absorber los nutrientes, como en el caso de las micorrizas mejorando la nutrición de los cultivos; mineralización de nutrientes, o sea transformación de compuestos orgánicos que la planta no puede absorber a formas inorgánicas que si pueden ser absorbidas; solubilización de formas inorgánicas de nutrientes como ocurre con el fósforo; otros cambios químicos de formas inorgánicas de nutrimentos, debido a procesos de oxidación-reducción; algunos efectos indirectos como aquellos debidos al mejoramiento de las propiedades físicas del suelo (Munevar, 1982).

El componente biorgánico del suelo garantiza los procesos vitales del mismo, es decir mantiene la respiración (expele CO_2 y absorbe O_2) lo que dinamiza los procesos energéticos, metaboliza compuestos que le mantienen su cuerpo (estructura) y libera (lixivia) lo que no puede asimilar o retener y aun puede llegar a intoxicarlo como cualquier ser viviente (Primavesi, 1982). Consecuentemente la dinámica y la población microbial del suelo están influenciadas fuertemente, con las prácticas de labranza y manejo.

La microbiota del suelo es responsable de la ejecución y el control de funciones esenciales como la descomposición de la materia orgánica, producción de humus, reciclaje de nutrientes, flujo de energía, fijación de nitrógeno atmosférico, solubilización de nutrientes esenciales, como el fósforo, producción de compuestos complejos que causan la agregación del suelo, descomposición de xenobióticos y también control biológico de plagas y enfermedades (Moreira y Siquiera, 2002).

1.9.2 Biomasa Microbiana (BM). La biomasa microbiana es el componente más activo del suelo, forma parte del “pool” de la materia orgánica y cumple una función muy importante en el humus, ya que interviene en los procesos de mineralización de nutrientes (Duchaufour, 1984), una vez muertos ponen a disposición de otros microorganismos y de las plantas los nutrientes contenidos en los restos microbianos (Jenkinson y Ladd, 1981) y, por otro lado, también participan en la inmovilización. Así, los ciclos de algunos nutrientes mayoritarios, como el carbono, demuestran que la BM es clave en la dinámica de los nutrientes esenciales en el sistema edáfico; por ello, algunos autores afirman que la BM y su actividad en el suelo puede ser empleada como índice de comparación entre sistemas naturales o como indicador de las variaciones sufridas en el equilibrio de un suelo debido a la presencia de agentes nocivos o su manejo productivo (Doran *et al.*, 1994). Es decir, que los parámetros microbiológicos, y por lo tanto bioquímicos, sirven

para indicar posibles cambios netos en el equilibrio del suelo que no podrían detectarse con métodos tradicionales (Brookes, 1985; Doran *et al.*, 1994; García y Hernández, 2000).

Algunos autores (Nannipieri, 1984; Brookes, 1985; Doran *et al.*, 1994) recomiendan indicadores sencillos de medir y de interpretar. Los más comunes que se utilizan son, entre otros, la biomasa microbiana, la respiración del suelo y las relaciones con la materia orgánica y el estado fisiológico del suelo, donde se ve involucrada la energía en los procesos orgánicos. En cuanto a la BM, este indicador expresa la cantidad de microflora presente en el suelo a través de la extracción del carbono microbiano. El mismo se ve afectado por la agroclimatología que sufren las muestras *in situ*, es decir la humedad, el calor, la biodiversidad de residuos orgánicos al ecosistema y por sustancias agresivas a la actividad microbiana.

La biomasa microbiana es definida como el componente biótico de la materia orgánica del suelo (Jenkinson y Ladd, 1981) pero excluye la microfauna y las raíces. A pesar que la biomasa microbiana generalmente abarca menos del 5% de la materia orgánica del suelo (Dalal, 1998), constituye uno de los componentes esenciales de todos los ecosistemas terrestres; regula procesos críticos como son, la descomposición de materiales orgánicos, reciclaje de nutrientes, degradación de compuestos orgánicos xenobióticos, inmovilización de metales pesados, así como contribuye a la formación de los suelos y está directamente relacionada con el contenido total de materia orgánica (Nannipieri, 2003).

La biomasa microbiana puede ser un indicador sensible de los suelos por tener mayor tasa de recambio que la materia orgánica total del suelo (Jenkinson y Ladd, 1981; Paz, 2006). Debido a que pueden ser detectados cambios significativos en la biomasa microbiana mucho tiempo antes que se perciban cambios en la materia orgánica del suelo, se propone su uso como indicador inicial de las alteraciones previsibles por efectos de prácticas agrícolas diversas como fertilizaciones o aplicación de pesticidas, entre ellos, los herbicidas (Wardle y Parkinson, 1991; Kinney *et al.*, 2005).

Muchos métodos han sido utilizados para estimar la biomasa microbiana del suelo. Algunos se basan en técnicas de tinción y conteo de células microbianas. Otras, como las técnicas de fumigación, utilizan parámetros fisiológicos como ATP, producción de calor y cuantificación del carbono, que hacen parte del porcentaje de la fracción orgánica del suelo.

1.9.3 Respiración microbiana en la rizosfera. La actividad microbiana del suelo puede ser estimada indirectamente en la determinación de la respiración basal. Esta consiste en determinar la producción de O₂ en el medio o bien la concentración de CO₂ desprendido (función de la actividad biológica y del contenido del suelo en carbono orgánico fácilmente mineralizable), mediante la técnica de incubación estática que captura el producto de mineralización en una solución alcalina durante un periodo de tiempo bajo condiciones ambientales óptimas (Alef y Nannipieri, 1995; García *et al.*, 2003).

Comúnmente se analiza la tasa de evolución de CO₂ proveniente de la mineralización del sustrato orgánico del suelo. El flujo de CO₂ teóricamente representa una medición integrada de la respiración de raíces, respiración de la fauna del suelo y la mineralización del carbono desde las diferentes fracciones de la materia orgánica del suelo y del mantillo. Las mediciones también proveen una indicación sensitiva de la respuesta de la actividad microbiana a variaciones de temperatura y humedad, los efectos de humedecimiento – secado, la aplicación de agroquímicos o elementos metálicos, la exudación de sustancias supresoras y el manejo del medio, entre otros (García *et al.*, 2003; Peña, 2004). A pesar de sus limitaciones, la respiración continúa siendo el método más popular que se usa como indicador de la actividad microbiana del suelo.

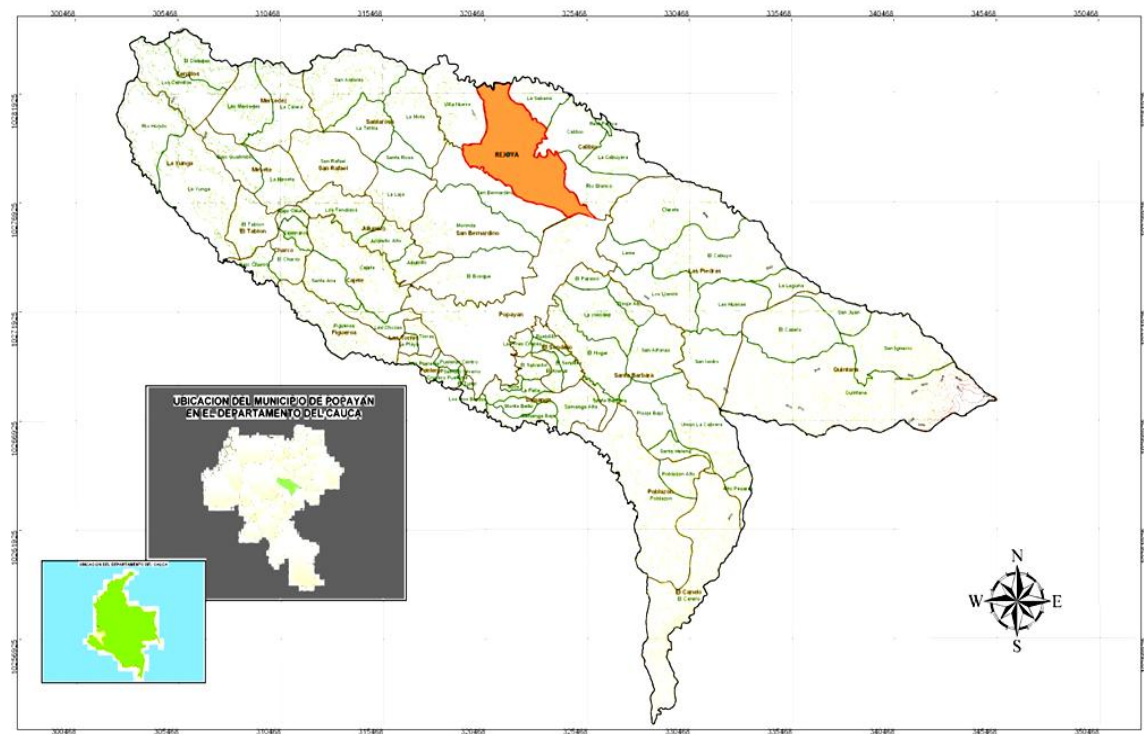
2. METODOLOGÍA

2.1 LOCALIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

La investigación fue de carácter experimental y tuvo lugar en la finca La Rejoja, propiedad de la Universidad Del Cauca, ubicada en la vereda La Rejoja municipio de Popayán a una altura de 1760 m.s.n.m., temperatura promedio 18°C y Humedad relativa del 70%.

En la finca La Rejoja se cuenta con un lote de café variedad Colombia con edad de tres años, sembrado a una densidad de 1.20m entre plantas y 1.40m entre surcos, manejado técnicamente y sin presencia de sombrío.

Figura 4. Ubicación geográfica de la vereda La Rejoja



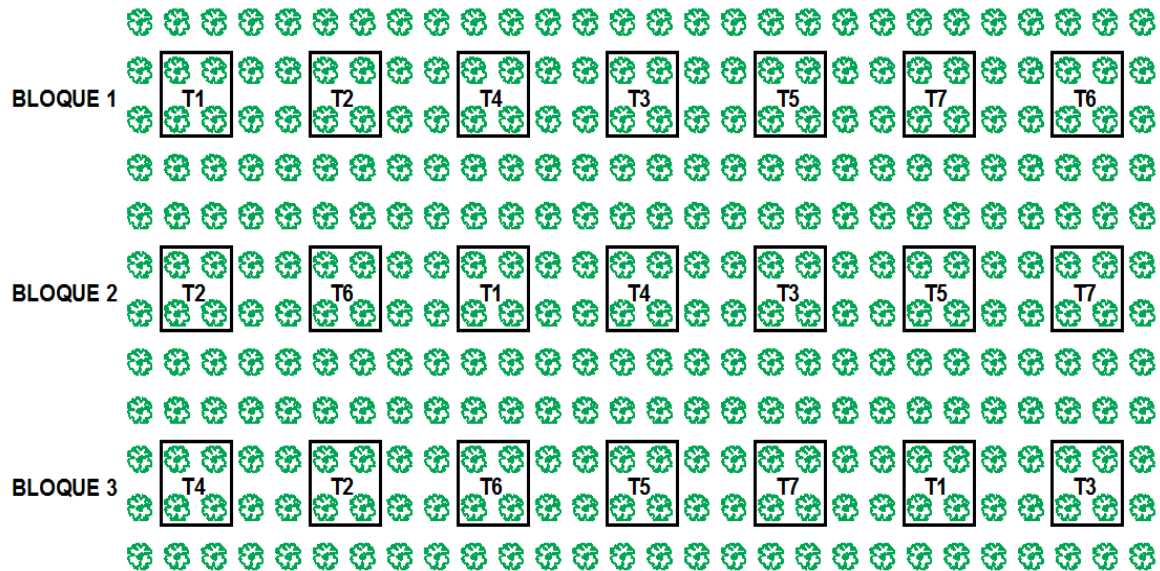
Fuente. UMATA Popayán, 2007.

2.2 SELECCIÓN DEL LOTE

En el lote de café variedad Colombia de la finca La Rejoja se establecieron parcelas de 2mx2m; donde cada parcela estaba limitada por 4 árboles de café y dispuestas en siete tratamientos con tres repeticiones bajo un diseño en bloques completos al azar 7 x 3,

donde siete fueron los tratamientos y tres los bloques. La distribución de las parcelas experimentales se observa en la figura 5.

Figura 5. Distribución de las parcelas experimentales



2.3 DESCRIPCIÓN DE TRATAMIENTOS

T1: suelo sin maleza, (SSOLO)

T2: suelo con maleza de hoja ancha, (MHAn)

T3: suelo con maleza gramínea, (MG)

T4: suelo con maleza de hoja ancha más Glifosato herbicida sistémico, (MHAn+G)

T5: suelo con maleza gramínea más Glifosato. (MG+G)

T6: suelo con maleza de hoja ancha más Paraquat herbicida de contacto. (MHAn+PQ)

T7: suelo con maleza gramínea más Paraquat, (MG+PQ).

2.4 PROCEDIMIENTO EN CAMPO

Para la preparación de las parcelas se limitaron con cinta de color amarillo en las cuales se encerraron cuatro arboles de café y en el centro de ellos se realizaron los muestreos (figura 6).

Dos semanas antes de hacer la aplicación de los herbicidas se tomaron 3 parcelas para el tratamiento suelo sin maleza (SSOLO), las cuales mediante un proceso mecánico (control con azadón) se les eliminó las arvenses para dejar expuesto el suelo al medio ambiente, con el fin de estimar la tendencia de la respiración y la biomasa microbiana en ausencia de las arvenses, así se mantuvieron durante todo el periodo de investigación. De igual

manera para las parcelas maleza hoja ancha y maleza gramínea, se les hizo un proceso de mantenimiento, donde las parcelas que se tomarían como maleza hoja ancha (9 parcelas) se les eliminó toda planta que no perteneciera a esta clasificación, como gramíneas y ciperáceas, de igual manera este procedimiento se le realizó a las parcelas de maleza gramínea (9 parcelas), donde se eliminó toda planta de hoja ancha y ciperácea que no perteneciera a esta clasificación, dejando solamente plantas de la familia Gramineae.

Figura 6. Delimitación de las parcelas y representación del área de muestreo



Además de hacer actividades de mantenimiento a las parcelas, se realizó un proceso de homogenización de las arvenses, el cual consistió en realizar una poda a la misma altura con el fin de llevar las plantas a un mismo nivel. Una semana después se realizó un muestreo previo a la aplicación de herbicidas para estimar el estado de la actividad biológica en la rizosfera de las arvenses asociadas a este cultivo, a partir de la medición del CO_2 proveniente de la respiración, método en campo propuesto por Swisher (1999) (Anexo A) y mediante la Estimación de la biomasa microbiana en función del carbono microbiano (Método de fumigación – extracción, CIAT, Akasawua N, 2001) (Anexo B).

Una vez realizado dicha evaluación, las parcelas maleza hoja ancha (MHAn) y maleza gramínea (MG) se dividieron para originar 3 testigos sin aplicación, 3 con aplicación de herbicida Paraquat y 3 con aplicación de herbicida glifosato, para cada una de ellas (figura 7).

En la tabla 2, se presentan las especies de arvenses, tanto de hoja ancha como de hoja angosta, de mayor predominancia en el lote de experimental, ubicado en La Rejoja, municipio de Popayán (Cauca).

Figura 7. Esquema de origen de las parcelas donde se llevó a cabo la investigación

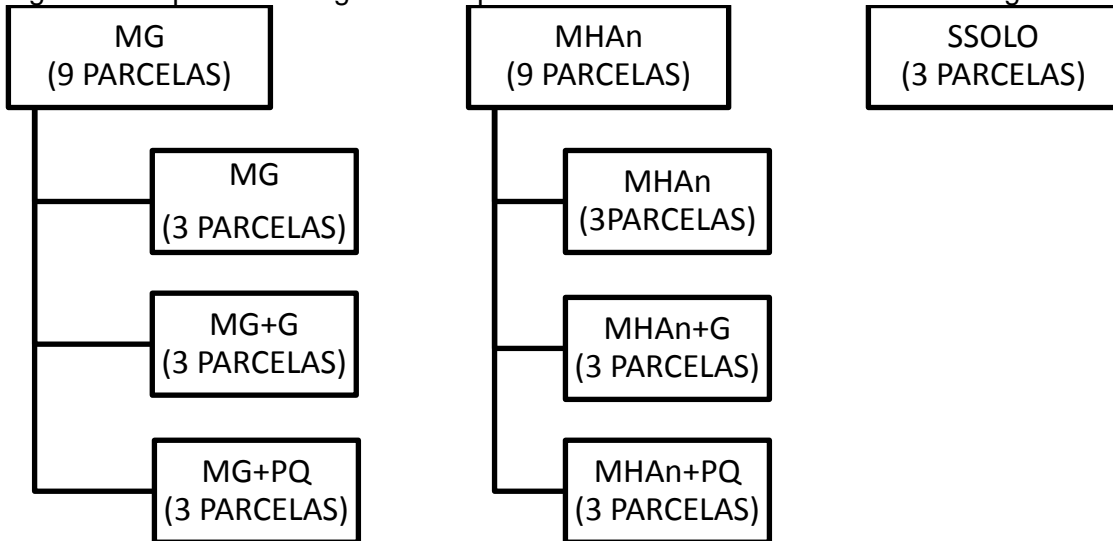


Tabla 2. Principales arvenses encontradas en el lote experimental

Nombre científico	Nombre común	Familia	Tipo de maleza
<i>Ageratum conyzoides</i>	Hierva de chivo	Asteraceae	Hoja ancha
<i>Bidens pilosa</i>	Amor seco	Asteraceae	Hoja ancha
<i>Brachiaria decumbens</i>	Braquiaria	Gramineae	Gramínea
<i>Cynodon dactylon</i>	Pasto argentina	Gramineae	Gramínea
<i>Cyperus rotundus</i>	Coquito	Cyperaceae	Ciperacea
<i>Digitaria sanguinalis</i>	Alambrillo	Gramineae	Gramínea
<i>Eleusine indica</i>	Pategallina	Gramineae	Gramínea
<i>Emilia sonchifolia</i>	Pincelito	Compositae	Hoja ancha
<i>Galinsoga ciliata</i>	Guasca	Compositae	Hoja ancha
<i>Panicum laxum Sw</i>	Pasto mijillo	Gramineae	Gramínea
<i>Parietaria debilis</i>	Hierba fresca	Urticáceas	Hoja ancha
<i>Paspalum paniculatum</i>	Grana	Gramineae	Gramínea
<i>Pseudelephantopus</i>	Oreja de burro	Compositae	Hoja ancha
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	Boton de oro	Asteraceae	Hoja ancha
<i>Torulinium odoratum</i>	Cortadera	Cyperaceae	Ciperacea

3. RESULTADOS

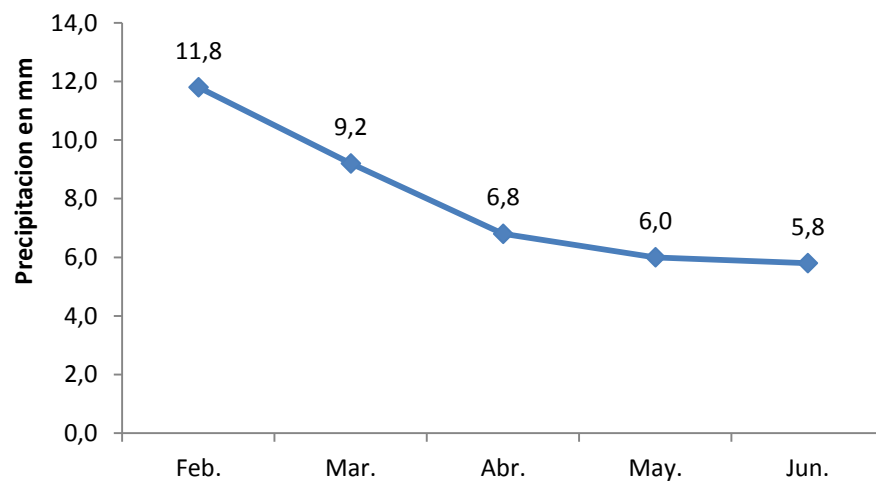
3.1 CLIMATOLOGÍA

Las actividades de los diversos grupos de organismos del suelo, están interrelacionadas entre sí y con las condiciones del ambiente prevalecientes a cada momento, verificándose que la población microbiana se ajusta rápidamente a las variaciones de estas condiciones ambientales y que son estas que fundamentalmente determinan el sentido en que la actividad de estas poblaciones se desarrolla, más que la especie o el número de microorganismos presentes. (Chung *et al.*, 1988; Corlay *et al.* 1993; Paz, 2006)

La acción microbiana del suelo depende, entre otros factores, de la temperatura, aireación y condiciones de humedad, reacción y contenido en elementos nutritivos y de la competencia y antagonismos que se establecen entre los propios grupos de microorganismos. (Chung *et al.*, 1988; Corlay *et al.*, 1993; Paz, 2006).

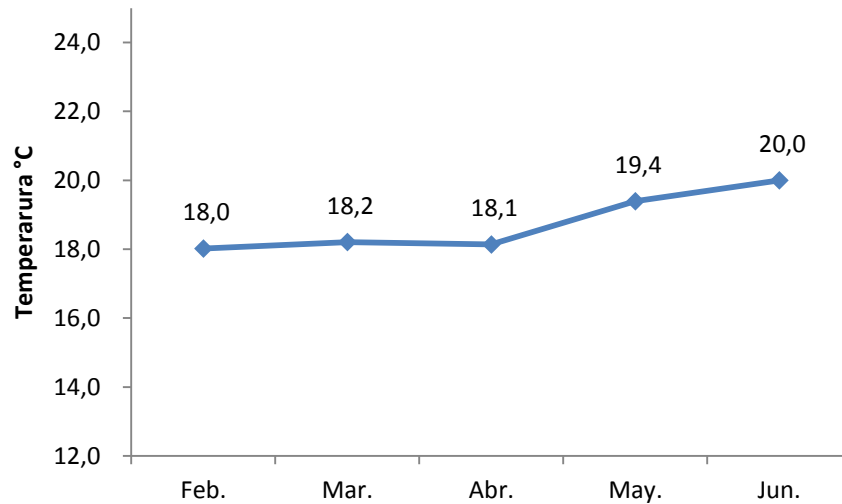
En la figura 8, se muestra que la tendencia a la disminución del promedio diario de las precipitaciones mes a mes de acuerdo con los registros arrojados por la estación meteorológica Machangara, entre el periodo de muestreo que comprende los meses de Febrero a Junio de 2011. Así mismo se presenta en la figura 9, el incremento en la tendencia de la temperatura promedio durante el mismo periodo de muestreo generando una relación indirecta con la precipitación.

Figura 8. Promedio de las precipitaciones en mm, durante el periodo de investigación comprendido entre Febrero y Junio de 2011



Fuente. Estación Meteorológica Machángara.

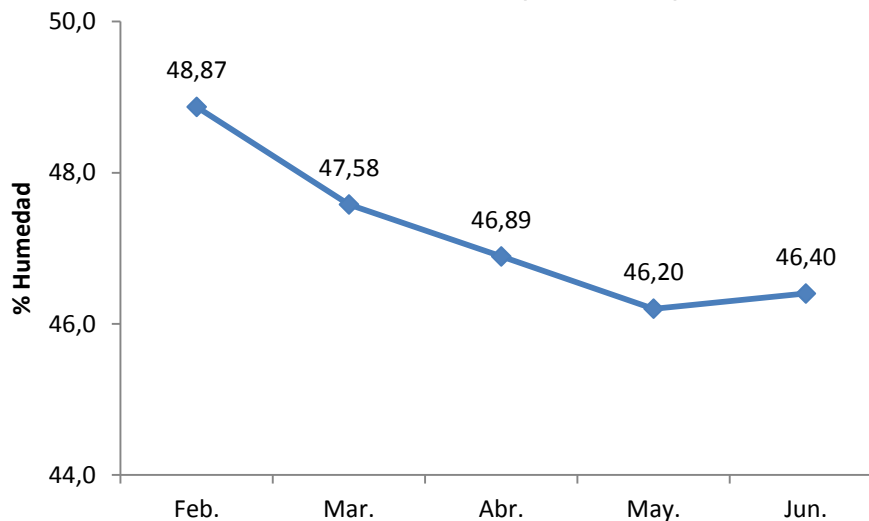
Figura 9. Promedio de Temperatura ambiente para el periodo febrero-junio de 2011



Fuente. Estación Meteorológica Machángara.

Al determinar la humedad del suelo en los sitios muestreados (figura10) se encontró que esta se mantuvo entre 46 y 49%, valores considerados como adecuados para el buen desarrollo de microorganismos. Paz (2006), menciona que entre 40 y 60% de humedad en el suelo ocurre un normal desarrollo de las poblaciones microbianas.

Figura 10. Promedio de humedad del suelo en las parcelas experimentales



Como indicador previsible a las alteraciones que provoca, el uso de las prácticas agrícolas, en este caso la aplicación de herbicidas, se toman dos muestreos, uno previa aplicación y otro después de dicha aplicación, para determinar el efecto que ocasiona el uso de los herbicidas sobre la respiración y la biomasa microbiana.

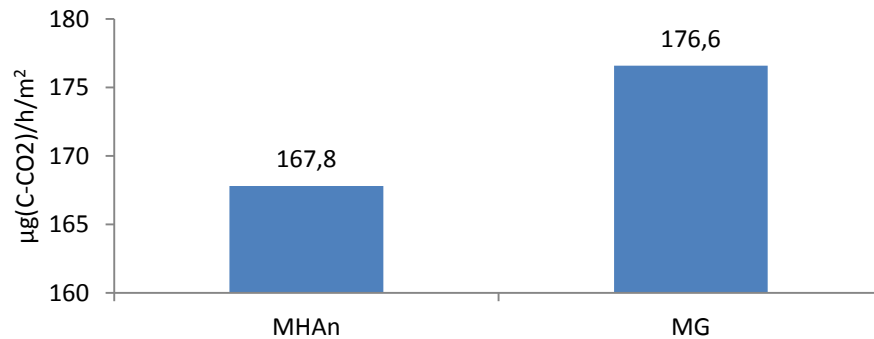
3.2 EFECTO DEL CONTROL QUÍMICO DE ARVENSES

Los microorganismos en su metabolismo dan origen a otros productos como mucilagos, gomas, ácidos, enzimas y polisacáridos extracelulares, y por supuesto CO₂. De tal manera que la medición del dióxido de carbono respirado es una estimación de la actividad y, por lo tanto, de la presencia microbiana; tal actividad varía en función de diferentes factores, como el uso del suelo, mineralogía, cobertura vegetal, prácticas de manejo, calidad de los residuos que entran al sistema, entre otros. (Harris, 1992)

Para estimar el efecto del control químico de arvenses sobre la respiración microbiana se tomaron los dos primeros muestreos de los cinco realizados. El primero, se llevó a cabo antes de hacer la aplicación de los herbicidas, con el fin de evaluar el estado inicial en que se encontraba la respiración biológica y la biomasa microbiana, y el segundo para evaluar el efecto de la aplicación, el cual se realizó un mes después.

3.2.1 Sobre la respiración en la rizosfera. En la figura 11, se muestra el comportamiento inicial que presentaron los tratamientos evaluados previa aplicación de los herbicidas, donde inicialmente se encontraban los tratamientos: maleza hoja ancha (MHAn), y maleza gramínea (MG). El muestreo se realizó una semana antes de la aplicación con el fin de estimar en qué estado se encontraba la actividad biológica determinada mediante la medición de CO₂ proveniente de la respiración.

Figura 11. Comportamiento de la Respiración en la rizosfera de las arvenses $\mu\text{g}(\text{C}-\text{CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$ en el mes de febrero (primer muestreo)



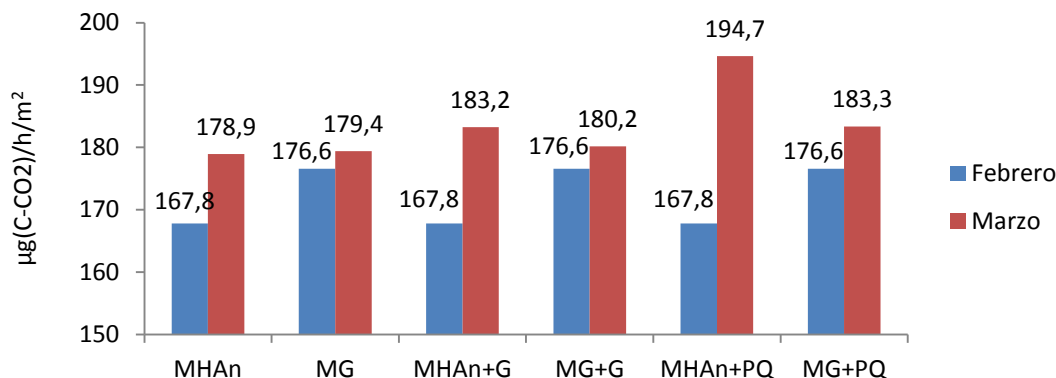
En este muestreo (febrero) se obtuvo valores de respiración del orden de 167.8 $\mu\text{g}(\text{C}-\text{CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$ para maleza hoja ancha (MHAn) y 176.6 $\mu\text{g}(\text{C}-\text{CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$ para maleza gramínea (MG), pero al aplicar la prueba de ANAVA ($\alpha=0.05$) no se observó diferencias significativas entre estos tratamientos (Anexo E), sin embargo se observó que las parcelas con maleza gramínea (MG) presentaron mayor valor en la respiración con respecto a maleza hoja ancha (MHAn). Hecho que puede estar relacionado con el tipo de planta, debido a que la mayoría de las gramíneas son del tipo C4, las cuales son más eficientes en sus procesos metabólicos.

Básicamente este tipo de plantas presentan mecanismos que le permiten concentrar el CO₂ para la fotosíntesis, logrando realizar este proceso en momentos del día, donde plantas C3 (por lo general plantas de hoja ancha) no la realizan, por ejemplo; donde las temperaturas son muy altas las plantas evitan respirar para impedir la pérdida de agua por transpiración, cortando así el proceso fotosintético. En el caso de las plantas C4 al tener reservas de CO₂ pueden hacer el proceso fotosintético en cualquier momento. Este proceso radica en el hecho de que al estar la Rubisco encerrada en las células de la vaina se le impide la posibilidad de que reaccione con oxígeno en situaciones en las cuales la concentración de CO₂ sea muy baja, por lo cual se reduce considerablemente la pérdida de energía y de CO₂ a través de la fotorespiración. (Azcón–Bieto y Talón, 2008)

El segundo muestreo que se realizó en el mes de marzo, un mes después a la aplicación de herbicidas, se observó un incremento de la respiración en todos los tratamientos con respecto al mes anterior (figura 12), resaltándose a MHA+n+PQ con 16% y a MHA+n+G con 9,2% más respiración que en el mes anterior.

Al analizar los datos mediante prueba de Duncan ($\alpha=0.05$) (anexo C) esta indicó que el tratamiento MHA+n+PQ fue el que más respiración mostró con respecto al resto de tratamientos.

Figura 12. Comportamiento de la respiración $\mu\text{g}(\text{C-CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$ para el mes de marzo (segundo muestreo)



Con respecto al efecto de la aplicación de los herbicidas, se obtuvo que las parcelas donde se hizo la aplicación con Paraquat presentaron mayor respiración de la rizosfera (raíces + microorganismos), es el caso de MHA+n+PQ y MG+PQ que incrementaron en 8.8% y 2.2% respectivamente comparado con los testigos sin aplicación. Para la aplicación con Glifosato los incrementos fueron menores, 2.4% y 0.4 % para MHA+n+G y MG+G respectivamente.

Para el caso del Paraquat el resultado se debe a la suma de la respiración de las raíces activas sobrevivientes de las arvenses y posiblemente raíces de café y la respiración de

los microorganismos, debido a que el Paraquat afecta solamente la parte aérea de la planta, permitiéndole a las raíces realizar procesos que contribuyan a la regeneración de la parte aérea; y en el caso del Glifosato la respiración es proviene de los microorganismos y posiblemente de raíces de café, debido a que el glifosato se transloca a toda las partes de la planta, causando así la muerte total de la misma. En lo que respecta a las raíces de café, Paz (2006) citando a Briceño (1983), menciona que las plantas de café incrementan la actividad respiratoria y liberación de CO₂ cuando las precipitaciones bajan y la temperatura aumenta, tal como ocurrió durante la época de muestreo.

El incremento en los valores de C proveniente del CO₂ de la respiración en los tratamientos a los cuales se les hizo aplicación de herbicidas, obedece a que, parte del herbicida que no fue adsorbido por las partículas del suelo, funcionó como un sustrato para los microorganismos (Douglas & Krueger, 1991), debido a que estos son de degradación microbiana, lo que hace aumentar las poblaciones, como hongos y bacterias, así como la biomasa (Stratton y Stewart, 1992, Wardle *et al.*, 1994), la actividad microbiana (Haney *et al.*, 2000, Busse *et al.*, 2001) y en consecuencia la respiración, para potenciar la mineralización activa de C y N debido a que usan el herbicida como fuente de carbono y energía.

Las bacterias y los hongos han sido descritos como los principales degradadores de herbicidas, siendo responsables de la transformación completa de los plaguicidas que resulta en CO₂, agua y minerales, o incompleta, dando lugar a metabolitos (Monteiro, 2001).

En investigaciones realizadas a campo, el glifosato no afecta o suele producir una leve estimulación de los microorganismos del suelo. En tal sentido, se observaron incrementos en el número de bacterias y hongos (Rueppel *et al.*, 1977; Roslycky, 1982), en la respiración del suelo (Carlisle *et al.*, 1986; Haney *et al.*, 2000; Araújo *et al.*, 2003; Fernández, 2007), en la mineralización del C y del N (Haney *et al.*, 2000; Andrea *et al.*, 2003) y en algunas actividades enzimáticas (Gianfreda *et al.*, 1995; Araújo *et al.*, 2003, Fernández, 2007). Según Araújo (2003) inmediatamente después de la aplicación del glifosato se estimula la actividad microbiana del suelo, que lo degrada rápidamente, aún en presencia de altas dosis aplicadas sin afectar adversamente la actividad microbiana.

En aquellos tratamientos donde no se hizo aplicación de herbicidas la tendencia de la respiración fue mayor con respecto al mes anterior, este resultado obedeció básicamente al estado fenológico de las plantas. Para esta época las parcelas con plantas de hoja ancha se encontraban en etapa de crecimiento vegetativo y las parcelas con maleza gramínea contaban con plantas adultas, en estas etapas las plantas manifiestan mayor respiración.

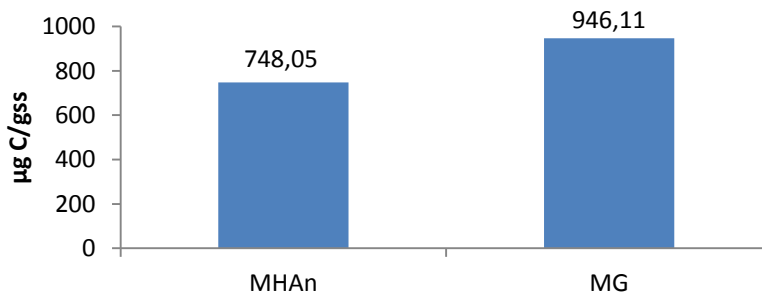
En términos generales, un tejido vegetal o una planta respira más cuando mayor es su demanda energética. Los tejidos, órganos o plantas jóvenes, en pleno crecimiento,

experimentan mayores tasas de respiración específica (es decir, expresada por unidad de biomasa) que cuando los mismos tejidos están completamente desarrollados, la alta tasa de respiración específica de tejidos y plantas jóvenes se debe a la gran demanda de esqueletos de carbono para crear las nuevas estructuras vegetales, al reciclaje del poder reductor metabolizado durante su biosíntesis y a la elevada demanda energética para sostener la tasa de crecimiento vegetativo. A medida que la planta se desarrolla y envejece, esta demanda se reduce y la tasa de respiración específica también disminuye. (Azcón-Bieto y Talón, 2008)

La edad de la planta también altera la flora edáfica (Paz, 2006), pues parece que los microorganismos responden más a las secreciones de la raíz que a los tejidos en descomposición; por otra parte, la forma de enraizamiento de las plantas modifica algunas propiedades del suelo. En este sentido es notorio el papel de las gramíneas, especialmente en la modificación de la estructura, favoreciendo el crecimiento de los microorganismos así como sus funciones (IGAC, 1993).

3.2.2 Sobre la biomasa microbiana. El primer muestreo se realizó una semana antes de la dicha aplicación con el fin de estimar en qué estado se encontraba la biomasa microbiana, ($\mu\text{g C/gss}$). En la figura 13 se puede observar los valores de biomasa microbiana en las parcelas antes de la aplicación, donde el mayor promedio de biomasa lo presentó los tratamientos con maleza gramínea (946,1 $\mu\text{g C/gss}$) seguidos de los tratamientos con maleza hoja ancha (710,8 $\mu\text{g C/gss}$).

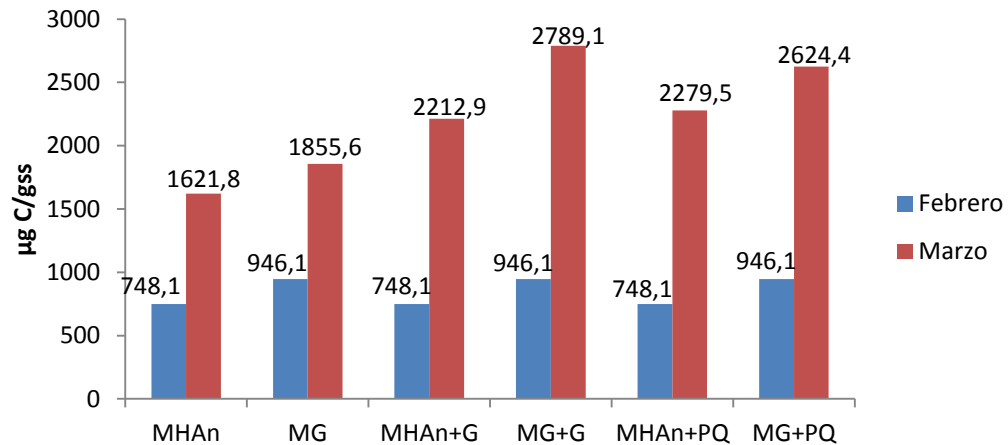
Figura 13. Valores de la biomasa microbiana ($\mu\text{g C/gss}$) previo a la aplicación de herbicidas



Al realizar el análisis estadístico se determinó mediante prueba de Duncan ($\alpha=0.05$), que no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos Anexo D, indicando que el valor de la biomasa fue similar en todas las parcelas

Para el segundo muestreo realizado en el mes de Marzo, un mes después de la aplicación de los herbicidas, la tendencia de la biomasa es a incrementarse con respecto al mes de febrero (figura 14). Esto está relacionado con diferentes factores como es el caso del efecto ambiental (Weber *et al.*, 1993; Paz, 2006), la actividad fisiológica de las plantas (IGAC, 1993) y a la aplicación de los herbicidas (Araújo *et al.*, 2003; Frioni, 1999).

Figura 14. Efecto del control químico de arvenses sobre la biomasa microbiana



En cuanto al efecto ambiental, este fue un factor determinante en la investigación, específicamente precipitación, que se relaciona con la humedad del suelo, mostraron una relación directa del 93% en ambas variables con la biomasa microbiana (anexo O); Weber *et al.*, (1993), menciona que la humedad del suelo y la temperatura afectan directamente varios procesos biológicos, como el tamaño de la biomasa, actividad biológica total, la estructura de la comunidad y la actividad degradante de los pesticidas (Fierer *et al.*, 2003). Cuando la temperatura aumenta, disminuye la precipitación (22.03% entre febrero y marzo) y disminuye la humedad del suelo a un punto óptimo (40% a 60%), se incrementa la degradación microbiana y en consecuencia la biomasa, pero cuando las lluvias aumentan la disponibilidad de oxígeno en el suelo se ve limitada y se ha comprobado que la descomposición es lenta. Paul y Clark, (1989) mencionan que cuando los suelos se humedecen en forma tal que los poros quedan llenos de agua la descomposición de la materia orgánica queda limitada por la velocidad con que el oxígeno puede difundirse hasta los puntos con actividad microbiana.

La actividad fisiológica de las plantas produce múltiples efectos sobre los microorganismos, y viceversa. Las interacciones entre los microorganismos del suelo y las raíces de las plantas satisfacen requerimientos nutricionales básicos para las plantas y para las comunidades microbianas asociadas a ellas. Las plantas liberan por sus raíces multitud de sustancias y exudados, que actúan como atrayentes de bacterias y hongos de la rizosfera. La producción de estas sustancias es más intensa en los primeros estadios de la vida vegetal buscando rápida colonización de sus raíces. Entre los exudados radicales se distinguen, según su naturaleza, azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, lípidos, vitaminas, proteínas, enzimas, entre otras. El tipo y la cantidad de estos compuestos varía bastante de una planta a la otra (Carreño *et al.*, 2000).

Al realizar pruebas estadísticas mediante análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) anexo K, se detectó diferencias significativas entre los tratamientos establecidos y la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) anexo D, indicó que los tratamientos a los cuales se les hizo la aplicación de herbicida presentaron mayores valores de biomasa microbiana que

aquellos sin aplicación (MG y MHA_n). Para la aplicación con Glifosato el tratamiento MG+R incremento en 50.3% y MHA_n+R incremento en 36.4%. Para el caso de la aplicación con Paraquat en los tratamientos MHA_n+PQ y MG+PQ se incrementó 40.6% y 41.4% respectivamente. La tendencia obtenida para los tratamientos con influencia de los herbicidas para la variable biomasa microbiana obedeció posiblemente a:

En el caso del **Paraquat**, por ser un herbicida de contacto, solo afecta a la parte aérea, y se ha señalado que cuando las plantas pierden su follaje, sus raíces empiezan un proceso de recuperación, lo cual implica mayor respiración, mayor gasto de energía y mayor liberación de exudados. Dichas sustancias cambian las propiedades físicas y químicas de los suelos; en particular, la estructura, la porosidad, el pH y el potencial redox, factores que en conjunto actúan de un modo u otro para influir sobre la densidad y la actividad de los microorganismos (IGAC, 1993). Además, el Paraquat aunque es adsorbido fuertemente por las partículas del suelo en casi 99% también es degradado por los microorganismos del suelo (Terry *et al.*, 2002), así que el Paraquat que permaneció en la solución del suelo fue posiblemente fuente de alimento para los microorganismos.

En el caso del **glifosato** la respuesta se debe a que este por ser un herbicida de degradación microbiana, su aplicación se convirtió en un sustrato para los microorganismos además de las condiciones ambientales que favorecieron el desarrollo de los mismos como lo manifiesta Ellis y Griffin, (2002) citado por Mijangos *et al.*, (2009).

Haney *et al.*, (2000), manifiesta que durante la estación temprana del crecimiento del cultivo, una cantidad significativa de glifosato puede enriquecer al suelo cuando es aplicado en parte aérea al presentarse lavado foliar del herbicida y/o de sus metabolitos de degradación o también por contaminación indirecta de la deriva del producto, exudación radicular, muerte y descomposición de los residuos de las plantas tratadas (Ellis y Griffin, 2002, citado por Mijangos *et al.*, 2009).

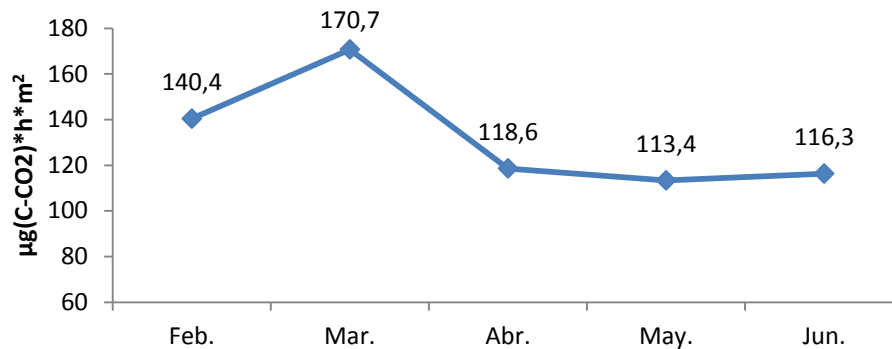
En investigaciones realizadas a campo, el glifosato no afectó y produjo una leve estimulación de los microorganismos del suelo. En tal sentido, se observaron incrementos en el número de bacterias y hongos (Rueppel *et al.*, 1977; Roslycky, 1982), en la respiración del suelo (Carlisle *et al.*, 1986; Haney *et al.*, 2000 ; Araújo *et al.*, 2003; Fernández, 2007), en la mineralización del C y del N (Haney *et al.*, 2000; Andrea *et al.*, 2003) y en algunas actividades enzimáticas (Gianfreda *et al.*, 1995; Araújo *et al.*, 2003, Fernández, 2007). Según Araújo (2003) inmediatamente después de la aplicación del glifosato se estimula la actividad microbiana del suelo, que lo degrada rápidamente, aún en presencia de altas dosis aplicadas sin afectar adversamente la actividad microbiana.

3.3 TENDENCIAS DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA A TRAVÉS DEL TIEMPO

3.3.1 Tendencia de la respiración en suelo sin arvenses (SSOLO). Con el fin de estimar la tendencia de la respiración en el suelo sin influencia de material vegetal

(arvenses), se consideró el tratamiento suelo solo (SSOLO). Sobre el cual se puede observar que hubo un incremento de la respiración en 22.6% con respecto al primer muestreo (febrero). Este puede atribuirse a la respiración por microorganismos al no haber rizosfera activa, además por la mineralización generada al darse mayor exposición al ambiente, específicamente sol y temperatura, y al tipo de control (control mecánico con azadón) que al modificar la estructura del suelo, generó un ambiente propicio para el desarrollo de los microorganismos.

Figura 15. Comportamiento de la respiración microbiana (C proveniente del CO₂) para suelo solo

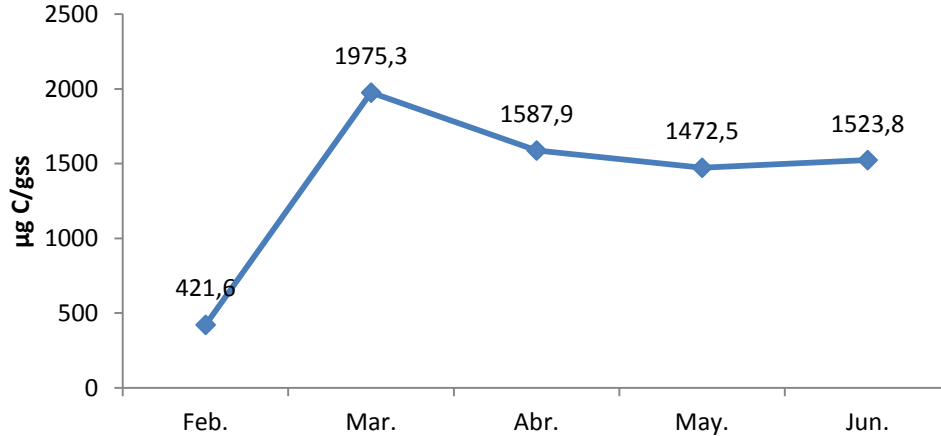


Para el tercer muestreo (abril), se presentó un descenso en la tendencia de la respiración para este tratamiento del 30.5%, causado posiblemente al disminuir la mineralización por agotamiento de la materia orgánica presente en el suelo, conduciendo a la merma de las poblaciones de microorganismos (tercer muestreo figura 16) y con ellas la respiración. En los muestreos siguientes se observó una tendencia al equilibrio posiblemente porque el suelo se acercó a la condición inicial (Madigan, 2003), puesto que prevalece la capacidad de los microorganismos de adaptarse a las condiciones anteriores a las presentadas, luego de un cambio en el ambiente en este caso la exposición al sol (Burges, 1960).

3.3.2 Tendencia de la biomasa microbiana (BM) en suelo solo. En la figura 16, se observa que el tratamiento SSOLO incrementó en 368.51% con respecto al primer muestreo; así como ocurrió con la tendencia en la variable respiración, el alto valor de BM (1975,26 µg C/gss) pudo deberse a que por encontrarse más expuesto al ambiente (sol y temperatura alta) y al tipo de control usado (mecánico con azadón) hubo una mayor mineralización de la materia orgánica (Paz, 2006)

Alexander (1980) menciona que las prácticas en los cultivos ejercen numerosos efectos biológicos directos e indirectos sobre las poblaciones microbiales del suelo. Cuando la influencia de prácticas mecánicas es muy intensa sobre las poblaciones de bacterias inmediatamente después de la ruptura del suelo, el número de microorganismos aumenta 20 ó 30 veces debido a la modificación de las condiciones de porosidad y del flujo de gases y agua a través de los espacios vacíos.

Figura 16. Comportamiento de la biomasa microbiana ($\mu\text{gC/gss}$) para suelo solo

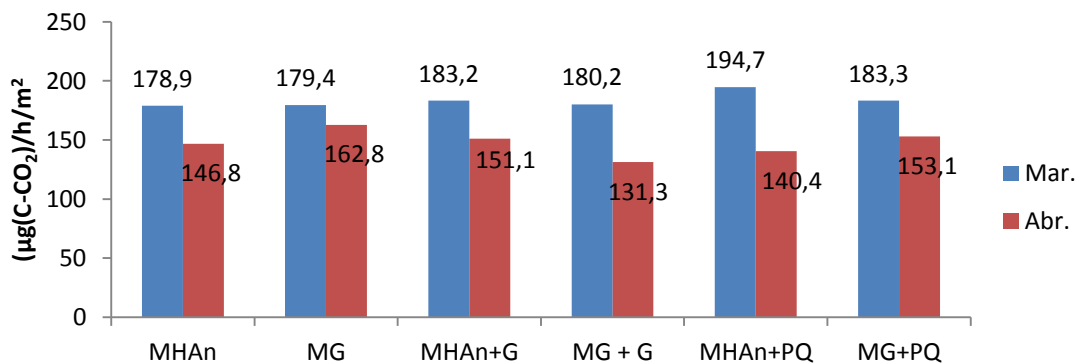


Como ocurrió con la respiración para el tercer muestreo (abril), en la BM se presentó un descenso en la tendencia de esta en 19,6% causado posiblemente por la reducción de la mineralización y las poblaciones microbianas. En los muestreos siguientes también se observó una tendencia al equilibrio.

3.3.3 Tendencia de la respiración en tratamientos con aplicación de herbicidas. En

la figura 17, se representa la tendencia de la respiración en la rizosfera de las arvenses ($\mu\text{g(C-CO}_2\text{)/h/m}^2$) entre el segundo y tercer muestreo (abril) para los tratamientos evaluados, observándose una disminución en la respiración en todos los tratamientos con promedio del 21.21 % respecto al mes anterior (marzo),

Figura 17. Comportamiento de la respiración ($\mu\text{g(C-CO}_2\text{)/h/m}^2$) para los meses Marzo – Abril



Para el muestreo de marzo, en los tratamientos donde se aplicó los herbicidas, estos actuaron a modo de sustrato para los microorganismos, además las condiciones ambientales como; temperatura y humedad del suelo fueron favorables influyendo en la

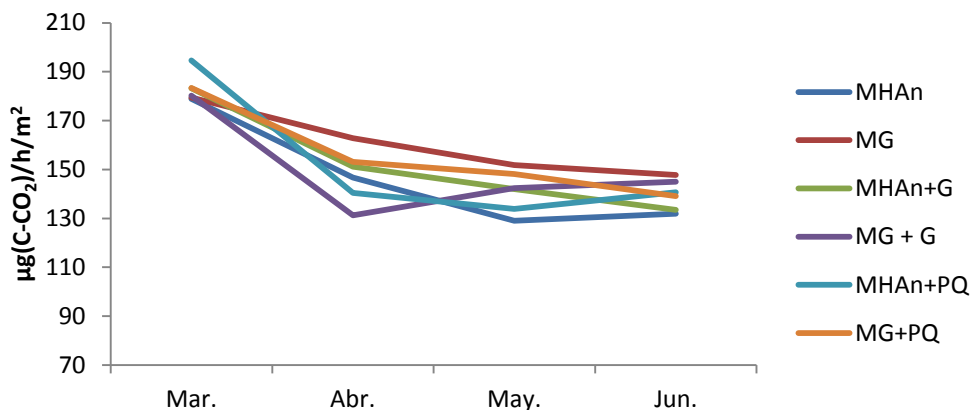
mineralización del suelo y el desarrollo de las poblaciones de microorganismos (Madigan, 2003). Sin embargo, con el paso de los días (abril) las fuentes de energía fueron agotadas con rapidez, provocando que las poblaciones microbianas disminuyeran, reflejándose esto, en disminución de la actividad biológica expresada en la respiración (Fenchel *et al.*, 2000) disgregada así: 27.8% para MHAn+PQ, 27.13% para MG+G, 17.52% para MHAn+G y 16.4% para MG+PQ. A lo anterior se le suma la ausencia de plantas que generan rizodepositados y que también son fuente de alimento para los microorganismos del suelo. Estas diferencias encontradas en los tratamientos mencionados fueron detectadas mediante prueba de Duncan ($\alpha=0.05$) anexo C.

Fenchel *et al.*, (2000), menciona que la presión del ambiente y la disponibilidad de alimento influye positiva o negativamente en las poblaciones microbianas, puesto que en el suelo los microorganismos compiten entre sí para obtener lo que todos ellos necesitan: nutrientes y energía y dependen en gran medida de la temperatura y la humedad del suelo.

En cuanto a la acción de los herbicidas Feng *et al.* (1990), detectaron una rápida degradación inicial del glifosato, que obedeció al incremento en las poblaciones microbianas en el suelo, como hongos y bacterias, seguida de una degradación más lenta, lo que se atribuyó a la acción inicial de los microorganismos sobre el herbicida libre y posterior ataque al herbicida adsorbido en el suelo.

En la figura 18, se presenta la tendencia general de la respiración en la rizósfera de las arvenses a partir del segundo muestreo, periodo comprendido entre marzo y junio de 2011, en la finca La Rejoja.

Figura 18. Comportamiento de la respiración $\mu\text{g}(\text{C-CO}_2)/\text{h}/\text{m}^2$, en el periodo Abril-Junio (tercer - quinto muestreo)



Posterior a la caída presentada después de marzo, en los tres últimos muestreos (abril, mayo y junio) se puede observar que la tendencia de la respiración en todos los

tratamientos es hacia el equilibrio, mostrando similitud con la tendencia presentada en biomasa posiblemente porque el suelo se acercó a la condición inicial. Cabe resaltar que la respiración en los meses de mayo y junio nunca fue inferior a la ocurrida en el tratamiento suelo solo. Lo anterior corrobora que prevalece la capacidad de los microorganismos de adaptarse a las condiciones anteriores a las presentadas, luego de un cambio en el ambiente ((Madigan, 2003; Burges, 1960).

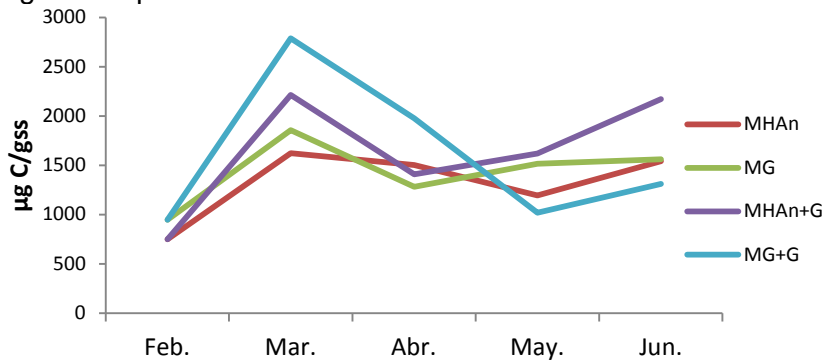
Al relacionar la tendencia de la respiración en la rizosfera de las arvenses con el comportamiento de la precipitación y humedad del suelo para esta época, se encontró una relación directa significativa con un coeficiente de correlación igual al 99% con la precipitación y un 94% con la humedad del suelo, indicando que cuando disminuyen estos factores climáticos, también disminuye la respiración en la rizosfera (Anexo O), lo anterior puede explicarse con lo mencionado por Rengifo *et al.*, (2010) citando a Robinson y Bower (1988), quienes reportan que las tendencias de las plantas de reducir la transpiración bajo condiciones de estrés hídrico, puede ser un mecanismo de resistencia a la sequía para economizar agua, caso que puede ser el de las arvenses, puesto que su tasa de desarrollo responde positivamente a las épocas lluviosas. Cuando disminuye la oferta hídrica se produce disminución en la tasa fotosintética, eficiencia fotosintética y acumulación de carbohidratos (Howard y Watschke, 1991; Carrow, 1996, Huang et al., 1998; Jiang y Huang, 2000). En cultivos como frijol se ha encontrado significantes descensos en el índice de captación de CO₂, por esta circunstancia (Yordanov et al., 1997).

3.3.4 Tendencia para BM en tratamientos con aplicación de herbicida. Para determinar la tendencia de la biomasa microbiana (BM) después de la aplicación de los herbicidas, se toman los tratamientos con aplicación de glifosato y los tratamientos con aplicación de Paraquat comparado con los tratamientos sin aplicación, durante el periodo Marzo-Junio.

3.3.4.1 Tendencia de la BM en tratamientos con aplicación de Glifosato. En la figura 20, se presenta la tendencia de la biomasa microbiana (BM) del suelo ($\mu\text{g C/gss}$) en los tratamientos con aplicación de Glifosato, para el periodo Marzo-Junio de 2011, comparados con los testigos sin aplicación, donde se muestra un descenso promedio en los valores de biomasa de 32.7% en los tratamientos con aplicación durante el periodo marzo-abril.

Posteriormente (mayo) el tratamiento MHA+G muestra una recuperación e incremento de la BM fundamentado por la presencia de nuevas plantas (*Emilia sanchifolia*, *Bidens pilosa*, *Siegesbeckia orientalis* y *Ageratum conyzoides*) y en consecuencia más rizodepositados. Para este periodo, los valores de la BM en MG+G no se recupera por la ausencia de arvenses en estas parcelas, sin embargo, la recuperación de la biomasa se presentó para el muestreo de junio debido a la presencia de nuevas plantas, de hoja ancha principalmente, como: *Emilia sanchifolia*, *Bidens pilosa*, *Siegesbeckia orientalis* y *Ageratum conyzoides*.

Figura 19. Tendencia de la biomasa microbiana ($\mu\text{g C/gss}$) en los tratamientos con Glifosato y testigos sin aplicación



Cabe resaltar que en las parcelas con gramíneas tratadas con Glifosato (MG+G), la totalidad de las plantas que ahí existían desaparecieron por completo y tardó más tiempo su rebrote con respecto al tratamiento MHAn+G, dando lugar a que especies diferentes a las existentes, principalmente plantas de hoja ancha surgieran en estas parcelas, destacándose: *Emilia sanchifolia*, *Bidens pilosa*, *Siegesbeckia orientalis* y *Ageratum conyzoides*.

Los tratamientos MG+G y MHAn+G mostraron un descenso en los valores de BM para el tercer muestreo (Abril), relacionado con la ausencia de raíces activas que produjeran exudados y sustancias como fuente de alimento para los microorganismos, provocando un descenso de los mismos, que en el caso del tratamiento MG+G se reflejó hasta el mes de mayo, mostrando diferencias significativas en abril y mayo (Duncan $\alpha=0.05$, Anexo D). Para junio la presencia de nuevas plantas proporcionó condiciones para que se aumenten las poblaciones microbianas debido a la producción de exudados radicales (IGAC, 1993; Paz, 2006), conllevando a que este tratamiento se acerque a los valores de BM del testigo MHAn. Wamberg *et al.*, (2003), mencionan que la diversidad y el número de los microorganismos dependen en gran medida de la composición y concentración de los nutrientes exudados por las raíces de las plantas. En manera general, el número de microorganismos en la rizósfera (R) es mucho mayor que el número de microorganismos en el suelo no rizosférico (S); de tal manera que la relación R/S, generalmente es mayor a 1 (Cardoso y Freitas, 1992).

Las bacterias que proliferan en la rizósfera compiten por nitrógeno y además utilizan los materiales orgánicos liberados por las raíces (Gosz y Fisher, 1984, citados por Tisdall, 1996). Tisdall, (1996), reporta que las bacterias predominantes en la rizósfera son Gram negativas (p.e. *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, y varias bacterias del ciclo del nitrógeno) en relación 5 a 2000 con el suelo no rizosférico.

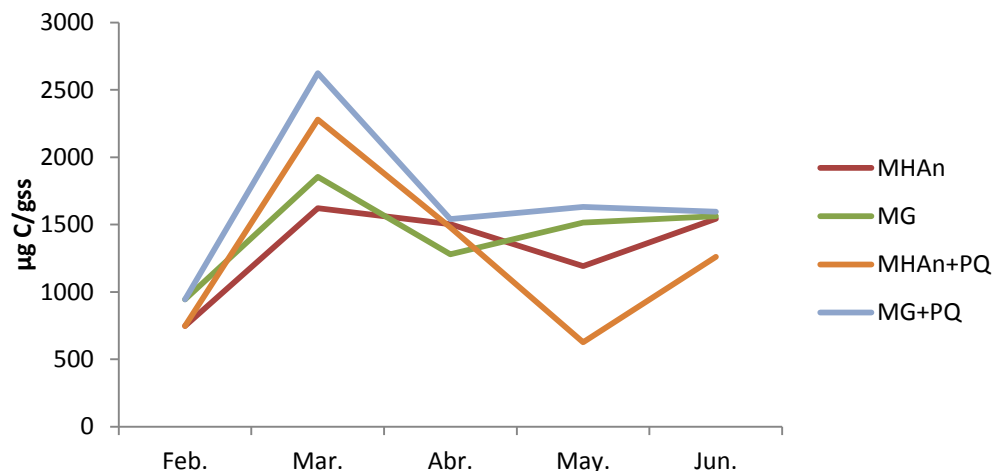
El tratamiento MHAn+G, mostró una recuperación de BM más rápida desde el mes de abril seguida de incrementos en los siguientes muestreos, notándose diferencias significativas (Duncan $\alpha=0.05$, anexo D). Esto, pudo deberse a que en estas parcelas se

presentó un rápido rebrote de las arvenses y desarrollo de nuevas plantas las cuales demandaron más energía para la formación de nuevas estructuras (Azcón-Bieto y Talón, 2008), conllevando a la producción de exudados radicales y al aumento de las poblaciones de microorganismos (Carreño, 2000; Paz, 2006; Rengifo *et al.*, 2010).

Cabe destacar que las disminuciones de BM registradas después de la aplicación nunca fueron menores a las registradas en el mes de febrero, periodo que representa la condición inicial de la actividad microbiana en términos de biomasa microbiana ($\mu\text{g C/gss}$).

3.3.4.2 Tendencia de la BM en tratamientos con aplicación de Paraquat. En la figura 20, se representa la tendencia de biomasa microbiana ($\mu\text{g C/gss}$) en la rizosfera de las arvenses para los tratamientos con aplicación de Paraquat y para los testigos sin aplicación. Donde se observa que para el tercer muestreo (abril) se presenta una caída en la cantidad de BM, en los tratamientos con aplicación del herbicida, con promedio de 29.3% respecto al mes anterior (marzo) y que en el caso del tratamiento MHA+PQ se prolonga hasta el mes de mayo, mostrando diferencias significativas (Duncan $\alpha=0.05$, anexo D), debido básicamente a la ausencia de arvenses en las parcelas. Para el muestreo de junio (quinto muestreo) la BM tiende al incremento gracias a que nuevas plantas generan condiciones para el desarrollo de los microorganismos (Carreño, 2000; Paz, 2006; Rengifo y Torres, 2010).

Figura 20. Tendencia de la biomasa bajo aplicación de Paraquat y testigos sin aplicación



En los tratamientos con aplicación de Paraquat se encontró una caída en la cantidad de BM ($\mu\text{g C/gss}$) durante el periodo marzo-abril, debido posiblemente a la ausencia de raíces en las parcelas con aplicación de herbicida, al agotamiento del herbicida convertido en sustrato y al agotamiento de los residuos orgánicos aportados por la muerte de las arvenses (Aguilera, 2000), sin embargo IGAC (1993), menciona que los microorganismos son más sensibles a la ausencia de las secreciones de la raíz que a los tejidos en descomposición. En cuanto al descenso por efecto del agotamiento del herbicida puede

no ser más determinante que la ausencia de raíces, porque este se biodegrada cuando está en la fase solución del suelo y se mineraliza de manera rápida y completa por los microorganismos (Terry *et al.*, 2002) y de la otra parte el 99% se absorbe fuertemente en los suelos de una gran variedad de texturas.

Para el cuarto muestreo, que fue llevado a cabo en el mes de mayo, el tratamiento MG+PQ mostro un comportamiento similar al testigo sin aplicación, debido a que en este momento estas parcelas nuevamente presentan plantas, gramíneas principalmente, como *Digitaria sanguinalis* y *Eleusine indica*, las cuales modifican la estructura del suelo y producen exudados que conllevan al desarrollo de los microorganismos (IGAC, 1993), en cuanto al tratamiento MHAn+PQ el descenso que expreso en abril, se prolongó hasta este muestreo, donde presenta diferencias significativas frente a los demás tratamientos, como el valor más bajo de biomasa microbiana (Duncan $\alpha=0.05$, Anexo D), lo cual obedeció a que en este tratamiento, la recuperación de las plantas fuera menor, lo que hizo que las poblaciones microbianas, disminuyeran por causa de la ausencia de alimento (Rizodepositado) (IGAC, 1993; paz, 2006; Carreño, 2000; Rengifo, 2010), hasta que se presentaran condiciones favorables para su desarrollo, tal como se reflejan para el siguiente mes.

Para el muestreo de junio el tratamiento MHAn+PQ, mostró los menores valores de BM pero la mayor recuperación (101% con respecto al mes anterior) debido a la presencia de nueva plantas de hoja ancha especialmente, que como ya se mencionó incrementaron los rizodepositados en el suelo. Carreño, (2000) menciona que con el avance de la etapa de crecimiento fenológico se incrementa la cantidad de rizodepositados.

El tratamiento MG+PQ, presento mejor recuperación de las arvenses, presentándose básicamente maleza gramíneas, donde se puede ver que se comporta igual que el testigo sin aplicación (MG), con lo que se puede afirmar que el comportamiento de la biomasa microbiana ($\mu\text{g C/gss}$) después de la aplicación de Paraquat tiende al equilibrio.

4. CONCLUSIONES

Con el estudio realizado se pudo establecer el efecto de los herbicidas sobre la actividad microbiana determinada con los métodos de respiración y biomasa microbiana. Donde se registró un incremento de los valores de respiración y biomasa después de la aplicación, este aumento inicial es frecuente, ya que los microorganismos mineralizan temporariamente los herbicidas utilizándolos como fuente de energía.

La tendencia a incrementarse la biomasa en aquellos tratamientos donde se hizo la aplicación de los herbicidas con respecto a los testigos, tiene fundamento en; la presencia del herbicida en la solución del suelo, a las condiciones climáticas prevalecientes en el momento, a la actividad fisiológica de las plantas como respuesta a la aplicación y a la presencia de residuos orgánicos en aquellas parcelas tratadas.

Para efectos del estudio y de acuerdo con los métodos usados, se determina que la tendencia de la BM se debe más a efectos fisiológicos de las plantas y a las condiciones ambientales que a un impacto de la aplicación de los herbicidas sobre las plantas, y que dichos impactos pueden ser más notorios con aplicaciones sucesivas de estos pesticidas. La tendencia de la respiración presentó estrecha relación con las condiciones climáticas, especialmente con la precipitación y humedad del suelo.

Las parcelas donde se encontró maleza gramínea y que fueron tratadas con el herbicida Glifosato se generó una erradicación efectiva de este tipo de maleza así mismo, mostraron una recuperación tardía de las arvenses, dando lugar para que se presentara principalmente maleza de hoja ancha como *Emila sonchifolia*, *Bidens pilosa*.

5. RECOMENDACIONES

Se propone realizar estudios que permitan establecer el tipo de poblaciones microbianas que resultan alteradas con la aplicación de los herbicidas

Se considera importante realizar estudios sobre la actividad microbiana con aplicaciones sucesivas de herbicidas

Se propone experimentar con métodos diferentes a los realizados en esta investigación, para medir la actividad microbiana en esta zona con el propósito de comparar posibles similitudes.

BIBLIOGRAFÍA

AGUILERA, S.M. 2000. Importancia de la protección de la materia orgánica en suelos. Simposio Proyecto Ley Protección de Suelo. Boletín N° 14. Valdivia, Chile, 2000 p. 77-85.

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, London.

ALEXANDER, M. 1981. Biodegradation of chemicals of environmental concern. Science. p. 211: 132- 138.

ANACAFE ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ. 1998.

ANANDACOOMRASWAMY A.; WATSON, M.; AMARASEKARA, A.R. y PUNYASIRI P.A.N. 1986. The influence of methods of weed management in tea on the surface layer of soil properties of an ultisol. Sri Lanka Journal of Tea Science. p. 55: 28-35.

ANDERSON, T. H. and DOMSCH. K. H. 1993. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effect of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. Soil Biol. Biochem. p. 25: 393–395.

ANDREA, M.; PERES, T.; LUCHINI, L.; BAZARIN, S.; PAPINI, S.; MATALLO, M. y SAVOY, V. 2003. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity Brasilia. Pesq. agropec. Bras. Vol.38 No.11.

ANDREA, M.; PETTINELLI, J. 2000. Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa ea respiração de microorganismos de solos. Arquivo Instituto Biológico, Sao Paulo. p. 67: 223-228.

ARAÚJO, A.; MONTEIRO, R. y ABARKELI, R. 2003. Effect of glyphosate on microbial activity of two Brazilian soils. Chemosphere, Oxford. p. 52: 799-804.

ASCON-BIETO J. y TALON. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal. Mc Graw Hill. Madrid. p. 265-286.

ASHTON, F. M. y CRAFTS, A.S. 1981. Mode of herbicides. New York, Wiley & Sons. 525 p.

ATLAS, R. y BARTHA, R. 2002. Ecología microbiana y Microbiología ambiental, 4a ed. Madrid, Pearson. 696 p.

AVENDAÑO, L. 1986. Evaluación de herbicidas pre-emergentes y post-emergentes, aplicados en plantaciones ya establecidas de café. En: IX simposio sobre caficultura latinoamericana. Guatemala, Guatemala. p. 63-70.

BAREA, J.M. y OLIVARES, J. 1998. Manejo de las propiedades biológicas del suelo. En: Jiménez Díaz, L.R. y R. Lamo de Espinosa (ed). Agricultura Sostenible. Madrid, Editorial Mundi Prensa. p.173-193.

BASNAYAKE A. K. 1986. Report of the Officer-in-Charge, Agronomy Division (Up Country) for 1985. Technical Report, Tea Research Institute of Sri Lanka. p. 23-26.

BOLTON, H.; FREDERICKSON, J.K. and ELLIOTT, L.F. 1993. Microbial ecology of the rhizosphere. En: F.B. Metting (Ed) Soil Microbiology Ecology, Marcel Dekker, New York. p. 27-63.

BOWYER, JR. and CAMILLERI, P. 1987. Chemistry and biochemistry of photosystem I herbicides. In D. H. Hutson; T. R. Roberts eds. Gran Bretaña, Wiley & Sons. p. 105-145.

BROMILOW, R.; EVANS, A.; NICHOLS, P.; TODD, A. and BRIGGS, G. 1996. The effect on soil fertility of repeated applications of pesticides over 20 years. Pesticide Science. p. 48: 63-72.

BROOKES, P.C. 1985. Microbial biomass and activity measurements in soil. Journal of Science Food Agricultural. p. 36: 269-271.

BROUWER, R. y De WIT, C.T. 1969. A simulation model of plant growth with special attention to root growth and its consequences. In: W. D. Whittington ed. Root Growth, p. 224-244.

BURGER, M. y FERNÁNDEZ, S. 2004. Exposición al herbicida glifosato: aspectos clínicos toxicológicos. Revista Médica del Uruguay. p. 202-207.

BUSSE, M.; RATCLIFF, A.; SHESTAK, C.; POWERS, R. 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. Soil Biology and Biochemistry. p. 33: 1777-1789.

CARDOSO, E.J. y FREITAS, S.S. 1992. La rizósfera. En: Sociedad Brasileira de la Ciencia do Solo. Microbiologia do solo. Campinas. p. 41-57.

CARLISLE, S. and TREVORS, J. 1986. Effect of the herbicide glyphosate on respiration and hydrogen consumption in soil, Water, Air, and Soil Pollution. p. 27: 391-401.

CARREÑO, L.R.; CAMPOS, R.N.; ELMERICH, C. y BACA, B.E. 2000. Control of Azospirillum brasilense NifA activity by P(II): effect of replacing Tyr residues of the NifA N-terminal domain on NifA activity. Physiological evidence for differently regulated tryptophan-dependent pathways for indole-3-acetic acid synthesis in Azospirillum brasilense. Mol. Gen. Genet., vol. 264, no. 4, p. 521-530.

CARROW, R.N. 1996. Drought avoidance characteristics of diverse tall fescue cultivars. Crop Sci. p 36:371-377.

CASAFE CÁMARA DE SEGURIDAD AGROPECUARIA Y DE FERTILIZANTES ARGENTINA. 2010.

CHUNG, Y.; HOITINK, H. y LIPPS, P. 1988. Interaction between organic matter decomposition level and soil borne disease severity, Agric Ecosystems Environ. p. 24:183-193.

CORLAY, L.; FERREIRA, R; ETCHEVERS, J.; ECHEGARY, A. and SANTIZO, J. 1993. Cinética de grupos microbianos en el proceso de producción de composta y vermicompost, Agriciencia. p. 33:375-380

DALAL, R. 1998. Soil microbial biomass- what do the numbers really mean? Australian Journal of Experimental Agriculture. 38: 649-665.

DOMSCH, K.; JAGNOW, G. y ANDERSON, T. 1983. An ecological concept for the assessment of side effects of agrochemicals on soils microorganisms. Residue Reviews. 86: 65- 105

DORAN, J.W. and PARKIN, T.B. 1994. Defining and assessing soil quality. En: Doran, J. W., D.C. Coleman, D.F. Bezdicsek, and B.A. Stewart (Eds). Defining soil quality for a sustainable environment. Spec. Pub. N° 35, S.S.S.A. Madison, WI. p: 3-21.

DOUGLAS, J.; KRUEGER, J. 1991. Microbial transformations of herbicides and pesticides. Advances in applied microbiology. 36: 1-66.

DUCHAUFOR, Philippe. 1984. Edafología, edafogénesis y clasificación. Barcelona, Ed. Mansson, 493p.

DUQUE, O.H. 2001. Análisis económico de 12 prácticas para mejorar el desempeño de las fincas cafeteras. Chinchiná, Cenicafé, 57 p.

EBERBACH, P.L. y DOUGLAS, L.A. 1983. Persistence of glyphosate in sandy loam. Soil Biol. Biochem. 15 p.

EKANAYAKE, P.B. 1992. Report of the Project Leader, Project B/Weed - Weed management in tea plantations for 1991. Technical Report, Tea Research Institute of Sri Lanka (en imprenta).

FEDKE, C. 1982. Biochemistry and Physiology of Herbicide Action. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. 202 p.

FENCHEL, T.; KING G.M. y BLACKBURN T.H. 2000. Bacterial Biogeochemistry. 2 ed. Academic Press, San Diego, cap.1.

FENG, J. and THOMPSON, D. 1990. Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed. 2: persistence in foliage and soils. Journal of Agriculture and Food Chemistry 38: p. 1118-11125.

FERNANDEZ, G. 2007. Efeitos de herbicidas na microbiota do solo em sistema fechado. Tesis Doctorado. Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil, Universidad de Estadual Paulista. 60p.

FIERER, N; SCIMEL, J. and HOLDEN, P. 2003. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. Soils Biology and Biochemistry. p. 35: 167-176.

FORLANI, G.; MANTELLI, M.; BRANZONI, M.; NIELSEN, E. and FAVILLI, F. 1995. Differential sensitivity of plant-associated bacteria to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. Plant Soil. p. 176: 243 -253.

FRIONI, L. 1999. Procesos microbianos. Córdoba, Argentina, Fundación Universidad Nacional de Río IV. 332 p.

GARCIA TORRES, L. y FERNANDEZ QUINTANILLA, C. 1991. Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas. Madrid , mundi-prensa. 348 p.

GARCÍA, C.; GIL SOTRES, F.; HERNÁNDEZ, T.; TRASAR CEPEDA, C. 2003. Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Mundi-Prensa, Madrid. p. 371 p.

GHASSEMI, M.; FARGO, P.; PAINTER, S.; QUINLIVAN, R. y TAKATA, B. 1981. Environmental fates and impacts of major forest use pesticides. Washington D.C., U.S. EPA. Office of pesticides and Toxic Substances. p. 149-168.

GIANFREDA, L. 1995. Activity of free and immobilized urease in soil: effects of pesticides. *Soil Biology & Biochemistry*. p. 26: 777-784.

GIBSON, J.E. and CAGEN, S.Z. 1977. Paraquat-induced functional changes kidney and liver. In: Autor, A.P., ed. *Biochemical Mechanisms of Paraquat Toxicity*. New York Academic Press. 117. p.

GILLER, K. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied Soil Ecology*. p. 6: 3-16.

GLASS, R. 1987. Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. p. 35: 497-500.

GÓMEZ, A. 1995. Las arvenses nobles previenen la erosión. *Avances técnicos de CENICAFE*. Colombia. 125-128 p.

GOMEZ ARISTIZABAL, A. y RIVERA, Horacio. 1987. Manejo y control integrado de arvenses en cafetales y potreros de la zona cafetera. *Federación Nacional de Cafeteros de Colombia*. Centro Nacional de Investigación de Café. Cenicafé. Chinchiná, Caldas. 245 p.

GOMEZ A. y RIVERA P. 1995. Descripción de arvenses en plantaciones de café. 2 ed. Chinchiná. Cenicafé. 490 p.

GRAYSTON, S.S.; WANG, C.; CAMPBELL y A. EDWARDS. 1998. Selective influence of plants species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology Biochemistry*. p. 30: 369-378.

GRESI, B.M. 1992. Biomasa microbiana do solo: metodos de determinação e resultados recentes. In : *Simpósio de Microbiologia do solo*. Sao Paulo.

GUARAY, F.; MONTERREY, J.; MONTERROSO, D. y STAVAR, C. 2000. Manejo integrado de plagas en el cultivo del café. Turrialba, Costa Rica. Talleres gráficos de inversiones papeleras S.A. INPASA. 267 p.

GUHARAY, F.; MONTERREY, J. MONTERROSO, D. y STAVAR, Ch. 2000. Manejo integrado de plagas en el cultivo de Café.

HANEY, R.; SENSEMAN, S.; HONS, F. y ZUBERER, D. 2000. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Science*. p. 48: 89-93.

HARRIS, P.J. 1992. Ecología de la población del suelo. En: Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas. Comp. A. Wild. Madrid: Mundi-Prensa.

HART, M. and BROOKES, P. 1996. Soil microbial biomass and mineralization of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. *Soil Biology and Biochemistry*. p. 1641- 1649.

HATZIOS, K.K. and PENNER, D. 1985. Interactions of herbicides with other agrochemicals in higher plants. *Rev. weedscience (EE.UU)* p. 1-63..

HOWARD, H. and WATSCHK, T.L. 1991. Variable high-temperature among Kentucky bluegrass cultivars. *Agron. J.* p 83:689-693.

HUANG, B., FRY, J.D. and WANG, B. 1998. Water relations and canopy characteristics of tall fescue cultivars during and after drought stress. *Hort. Sci.* p 33:837-840.

HUTCHINSON, G.I. 1995. Nitrogen Cycle Interactions with Global Change Processes. In Niertenberg, W. I. (Ed) *Encyclopedia of Environmental Biology*. Volume 2 San Diego, Academic press. p. 583-587.

I.G.A.C. 1993. Aspectos ambientales para el ordenamiento territorial del occidente del departamento del Caquetá. Bogotá: INPA-IGAC.

JENKINSON, D.S. y LADD, J.N. 1981. Biomasa microbiana en los suelos: measurement and turnover. En: E. A. Paul & J. N. Ladd (eds.), *Soil Biochemistry Vol. 5*. Marcel Dekker, New York, p. 415-417.

JENKINSON, D.; LAAD, J. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E.A., Ladd, J.N. (Eds.), *Soil Biochemistry*. New York, Marel Dekker. V.5. p. 415-417

JIANG, Y. and HUANG, B. 2000. Effects of drought or heat stress alone and in combination on Kentucky bluegrass. *Crop Sci.* p 40:1358-1362.

KERRY, B.R. 2000. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology.* p. 423- 441.

KINNEY, C.; MANDERNACK, K. y MOISER, A. 2005. Laboratory investigations into the effects of the pesticides mancozeb, chlorotalonil, and prosulfuron on nitrous oxide and nitric oxide production in fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry.* p. 837-850.

KOGAN, M y PÉREZ, A. 2003. *Herbicidas Fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción.* Ediciones Universidad Católica de Chile. 333 p.

LÓPEZ, E. y SAN JUAN, R. 1991. Las arvenses su control en el cultivo del café. *In* Manual de caficultura. Guatemala, Guatemala. p. 83-95.

MADIGAN, T.M.; MARTINKO, J.M. y PARKER, J. 2003. *Brock-Biology of Microorganisms.* Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

MARTINO, D. 1995. El Herbicida Glifosato: su manejo más allá de la dosis por hectárea. INÍA La Estanzuela. Serie técnica N° 61.

MATA, H.; RAMÍREZ, J. y SEGURA, A. 1986. Evaluación de algunos programas de combate de arvenses en el cultivo de café en el cantón de Pérez Zeledón, Costa Rica. *In* IX simposio sobre caficultura Latinoamericana. Guatemala, Guatemala. p 3-5.

MEJÍA, J. y CARIPE, J. 2002. Identificación, biología e interferencia de las principales especies de malezas en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). En: IX Curso sobre producción de maíz. ASOPORTUGUESA-INIA. Venezuela. p. 170-191.

MIJANGOS, I.; BECCERIL, J.; ALBIZU, I.; EPELDE, L. y GARBISU, C. 2009. Effects of glyphosate on rhizosphere soil microbial communities under two different plant compositions by cultivation-dependent and independent methodologies. *Soil Biology and Biochemistry:* p. 505-513.

MONGE. 1999. Manejo de la nutrición y fertilización del cultivo del café orgánico en Costa Rica. III Congreso Nacional de Suelos. Costa Rica.

MONTEIRO, R.T.R. 2001. Biodegradação de pesticidas em solos brasileiros. In-. MELO, I.S. de; SILVA, C.M.M.S. de; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. Biodegradação. Jaguariúna-SP: Embrapa Meio Ambiente. v. 1, p. 1- 14.

MOREIRA, F. y SIQUIERA, J. 2002. Xenobióticos no solo. In: MOREIRA, F. M.S.; SIQUIERA, J. O. Microbiología e bioquímica do Solo. Lavras: UFLA. p. 243-284.

MORELAND, D.E. 1980. Mechanism of action of herbicides. Annual review of plant physiology EE.UU. p. 31:597-638.

MUNEVAR, F. 1982. La Materia Orgánica del Suelo Instituto Colombiano Agropecuario. Fertilidad suelos recomendaciones de fertilizantes. Programa de suelos. Bogotá, Colombia.

NANNIPIERI, P. 1984. Microbial biomass and activity measurements in soil: ecological significance. Curr. Persp. Microb. Ecol. Washington, DC. p. 515-521.

NANNIPIERI, P. 2003. Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science 54: p. 665-670.

NISHIMOTO, R. 1992. Manejo de arvenses en plantaciones de café. Manejo de arvenses para países en desarrollo. Ed. R. Labrada; J.C. Caseley; C. Parker. Roma, Italia. p 375-381.

PAUL, E.A. and CLARK, F.E. 1989. Soil microbiology and biochemistry. San Diego. Academic press Inc. 273 p.

PAZ, I. 2006. Relación entre las propiedades del suelo, el sistema de sombrero en café tecnificado, la calidad del grano y bebida en la meseta de Popayán. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. p. 3-66.

PEÑA, W. 2004. Los suelos desarrollados sobre serpentinitas y su relación con la flora endémica. Índice bioquímico y metales. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela y CSIC, España. 404 p.

PITTY. A. 1997. Herbicidas: Aplicación. Formulación y deriva. In Pitty. A. Ed. Introducción a la biología, ecología y manejo de arvenses. El Zamorano. Honduras. Zamorano Academic Press. p. 133-159.

POWSLSON, D.; BROOKES, P. y CHIRSTEN, B. 1987. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford 19: p. 159-164.

PRIMAVESI, A. 1982. Manejo ecológico del suelo. Trad. S. Lerendegui. 5 ed. Buenos Aires, AR, El Ateneo. 499 p.

PURICELLI, E.C. y TUESCA, D.H. 1997. Análisis de los cambios en las comunidades de arvenses en sistemas de siembra directa y sus factores determinantes. En: *Revista de la facultad de Agronomía. La Plata. Vol. 102 N1. p. 97-118.*

RAMOS, E y ZÚÑIGA, D. 2008. Efecto de diferentes inoculantes sobre la actividad microbiana en la rizósfera del cultivo de pallar. 137 p.

RAO, P.S.C. and DAVIDSON, J.M. 1980. Estimation of pesticide retention and transformation parameters required in nonpoint source pollution models. In *Environmental Impact of Nonpoint Source Pollution*. M.R. Overcash and J.M. Davidson, Eds. Ann Arbor Science.

RENGIFO, G; TORRES, G. y PAZ, I. 2010. Caracterización de la actividad microbiana en ocho suelos cafeteros y su relación con las condiciones edafoclimáticas y edad de cultivos en el corregimiento de Calibío, Municipio de Popayán (Cauca). Universidad del Cauca.

RIVERA P., J.H. 1999. El manejo integrado de arvenses en cafetales aumenta los ingresos y evita la erosión. *Avances técnicos Cenicafé*. p. 259, 1-4.

ROJAS, C.E. 1984. Estimación de residuos, degradación y comportamiento de Paraquat en 3 suelos cafetaleros de Costa Rica. Tesis Ing. Agrónomo. San José, C. Rica. UCR. 58 p.

ROSLYCKY, E. 1982. Glyphosate and the response of the soli microbiota. *Soil Biology and Biochemistry*. p. 14, 87-92.

RUEPPEL, M.; BRIGHTWELL, B.; SCHAEFER, J. y MARVEL, J. 1977. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. p. 25, 517-528.

SANTOS, A. y FLORES, M. 1995. Effects of glyphosate on nitrogen of fixation of free-living heterotrophic bacteria. *Journal Microbiology* 20 (6): p. 349-352.

SCHUETTE, J. 1998. Environmental fate of glyphosate. Environmental Monitoring & Pest Management, Department of Pesticide Regulation, Sacramento.

SOTO, A. y VALVERDE, B. 1991. Los herbicidas. Propiedades fisicoquímicas, clasificación y mecanismos de acción. San José, Universidad de Costa Rica. 79p.

STRATTON, G.W. and STEWART, K. E. 1992. Glyphosate effects on microbial biomass in a coniferous forest soil. Environ. Toxicol. Water Qual. 17 (3). p. 223–236.

SWISHER, M. 1999. Manual para los estudios de campo, Modulo 1 la Ecología de la parcela. Universidad de la Florida. 84 p.

TERRY R., Roberts, JEREMY S., Dyson y MICHAEL C., G. 2002. Lane Desactivación de la actividad biológica del Paraquat en el entorno del suelo: una revisión del destino medioambiental a largo, Revista de Agricultura y Química de Alimentos, Vol. 50, Número 13, p. 3623–31.

TISDALL, J.M. 1996. Formation of soil aggregates and accumulation of soil organic Matter. In: CARTER, M. and STEWARD, B. A. Structure and organic Matter storage in agricultural soils. Lewis Publishers.

U.S. 1987. Environmental Protection Agency. Office of Drinking Water: Paraquat Health Advisory. Draft.

UMATA UNIDAD MUNICIPAL DE ASISTENCIA TÉCNICA AGROPECUARIA. 2010. Popayán.

VALVERDE, B. E. s.f. Modo de acción de los herbicidas. In Myron Shenk; Albert Fischer; bernal Valverde, eds. Principios basicos sobre el manejo de arvenses. Honduras, Escuela Agrícola panamericana, el Zamorano. 1991. p. 83-109. MIPH-EAP No. 65.

WAGNER, S. L. 1983. Clinical Toxicology of Agricultural Chemicals. Noyes Data Corporation.

WAIWRIGHT, M. 1998. A review of the effect of pesticides on microbial activity in soil. Journal Soil Science. p. 29: 287-298.

WAMBERG, C.; CHRISTENSEN, S.; JAKOBSEN, I.; MULLER, A. K. y SOROSSEN, S.J. 2003. The mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) affects microbial activity in the

rhizosphere of pea plants (*Pisum sativum*). *Soil Biology and Biochemistry*. p. 35: 1349–1357.

WAN, M.T. 1991. Acute toxicity to juvenile Pacific Northwest salmonids of Basacid Blue NB755 and its mixture with formulated products of 2,4-D, glyphosate, and triclopyr. v. 47 (3) *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. p. 471-478.

WAN, M.T., Rahe, JAMES E. and WATTS, Ronald G. 1998. A New Technique for Determining the Sublethal Toxicity of pesticides to the Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus Intrardices* *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 17, No. 7. p 1421 1428.

WARDLE, D. y PARKINSON, D. 1990. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and Soil*. p. 122: 21-28.

_____. 1991. Relative importance of the effects of 2,4-D, glyphosate and environmental variables on the soil microbial biomass. *Plant and Soil*. p. 134:209-219.

WEBER, J.; BEST, J. y GONESE, J. 1993. Bioavailability and bioactivity of sorbed organic chemicals. In D.M LINN *et al.*, eds. *Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in soil*. Madison, WI: American Society of Agronomy And Soil Science Society of America. p.153-196.

WETTASINGHE, D.T. 1972. Weed control in tea. En: *Proceedings of Symposia No.1 "Towards increased productivity on tea lands in Ceylon"*. Tea Research Institute of Ceylon. p. 30- 31.

YORDANOV, I., TSONEV, T., GOLTSEV, V., MERAKCHIISKA-NIKOLOVA, M. and GEORGIEVA, K. 1997. Gas exchange and chlorophyll fluorescence during water and high temperature stress and recovery. Probable protective effect of carbamide cytokinin 4-PU 30. *Photosynthetica*. p 33:423-431

ANEXOS

ANEXO A. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE RESPIRACIÓN EN EL SUELO (C-CO₂)

Procedimiento del método en campo propuesto por Swisher (1999).

Se determina los sitios de muestreo que no estén cerca de árboles u otras plantas diferentes al cultivo a muestrear.

Evitar colocar las muestras en sitios donde haya animales que puedan derribar la muestra.

Preparar una solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) al 0.2N, que es utilizada para la captura de CO₂ presente en el suelo.

Adicionar en recipientes de vidrio 30ml de solución NaOH 0.2N por sitio de muestreo y tapar inmediatamente para evitar la captura de CO₂ atmosférico.

Previamente en el sitio de muestreo, remover el suelo para colocar el recipiente plástico que se utiliza para cubrir el frasco de vidrio que contiene NaOH, se debe observar que no existan macro invertebrados en el suelo (lombrices, hormigas, cucarrones, etc.), intentando no perturbar el suelo ya que la remoción de este puede causar una liberación excesiva del CO₂.

Figura 1. Sitio de muestreo donde se realizó la prueba de respiración



Colocar los recipientes con NaOH en el sitio de muestreo, haciendo un poco de presión contra el suelo para evitar que se derribe.

Quitar las tapas de los recipientes y cubrir inmediatamente con el recipiente plástico para evitar la entrada de CO₂ atmosférico.

En cada punto de muestra se debe tomar la temperatura ambiente y del suelo

Dejar los recipientes de vidrio con NaOH cubiertos con el recipiente de plástico en campo por 24 horas. Adicionalmente colocar dos recipientes con la solución también cubiertos en superficies del lote planas y sellarlas completamente con el suelo para evitar la entrada de CO₂ así mismo en la casa (Blancos).

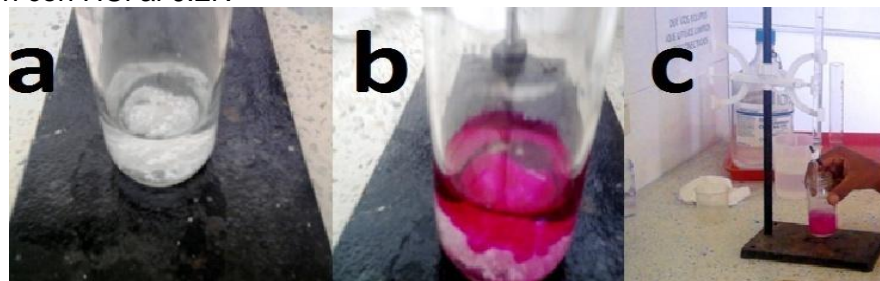
Figura 2. Establecimiento para prueba de respiración



Pasadas las 24 horas, levantar los recipientes plásticos con mucho cuidado, para no introducir terrones de tierra o insectos dentro de los frascos que contienen la solución. Inmediatamente adicionar 2 gotas de Cloruro de Bario al 3N (BaCl₂) para precipitar el CO₂ en la solución de NaOH y detener la captura de CO₂; tapar los frascos para prevenir la contaminación con CO₂ atmosférico.

Las muestras recolectadas se llevan directamente a laboratorio para realizar la titulación usando fenolftaleína alcohólica 5% y ácido clorhídrico 0.2N.

Figura 3. a) Adición de BaCl₂ al 0.3N, b) Adición de fenolftaleína al NaOH con BaCl₂, c) Titulación con HCl al 0.2N



**ANEXO B. ESTIMACIÓN DE LA BIOMASA MICROBIANA, EN FUNCIÓN DEL
CARBONO MICROBIANO. (MÉTODO DE FUMIGACIÓN – EXTRACCIÓN, CIAT,
AKASAWUA N, 2001)**

Procedimiento de campo:

Simultáneamente con la prueba de respiración, se toman aproximadamente 50gr de suelo de cada sitio de muestreo.

Si la muestra no se utiliza el mismo día de la toma, se debe refrigerar a 4°C con el fin de evitar pérdidas de humedad.

Procedimiento en laboratorio:

Tomar una parte de la muestra de suelo para la prueba de humedad; esta consiste en colocar la muestra en cajas de petri debidamente rotuladas y dejar en horno a 150°C por 24 horas.

Tamizar la otra parte de suelo.

En recipientes pequeños colocar 5gr de suelo tamizado, las muestras que serán fumigadas se colocan en desecador, en un sitio que simule las condiciones de radiación de donde es originaria la muestra; ubicar dentro del desecador un beaker con 25ml de Cloroformo libre de etanol. Las muestras no fumigadas se ubican en un lugar seco y sin riesgo de contaminación. Las muestras se dejan en estas condiciones durante tres días.

Pasados los 3 días se sacan las muestras del desecador, se adiciona a cada muestra 20ml de solución de Sulfato de Potasio 0.5M (K_2SO_4) y se colocan en agitador orbital durante 30 minutos.

Se procede a la extracción de las muestras fumigadas y no fumigadas con la ayuda de una bomba de vacío, que consta de un Erlenmeyer con desprendimiento que recibe la extracción, un embudo de Buchner con papel filtro Whatmman N°42.

Para la determinación del carbono orgánico, se adicionan a tubos de ensayo 15ml, 4ml del extracto, 1ml de solución de Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$) y 5ml de Ácido Sulfúrico al 96% (H_2SO_4). Colocar los tubos de ensayo en bloque de digestión seca previamente calentado a 150°C durante 2 horas.

Pasadas las 2 horas sacar y destapar las muestras con cuidado (dejar enfriar), trasvasar cada una de las muestras a vasos Beaker con magneto, montar en plancha de agitación y adicionar 2 gotas de Ferroína indicadora y titular con solución de Sulfato Ferroso Amoniacal al 0.033N (FAS).

La muestra inicialmente toma un color verde oscuro, pasando a verde esmeralda y luego a verde aguamarina, por último a color café que es el indicador de finalizar la titulación; escribir los ml de FAS que se utilizaron hasta llegar al color café.

ANEXO C. PRUEBA DE DUNCAN ($\alpha= 0.05$) PARA PROMEDIOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

	Marzo	Abril	Mayo	Junio
SSOLO	170,7 b	118,6 c	113,4 d	116,3 d
MHAn	178,9 b	146,7 c	129,0 c	131,9 c
MG	179,4 b	162,8 a	151,8 a	147,8 a
MHAn+G	183,2 b	151,1 b	141,9 b	133,4 c
MG + G	180,2 b	131,3 c	142,3 b	145,0 a
MHAn+PQ	194,6 a	140,4 c	133,8 c	140,7 b
MG+PQ	183,3 b	153,1 b	148,2 a	139,1 b

ANEXO D. PRUEBA DE DUNCAN ($\alpha= 0.05$) PARA PROMEDIOS DE BIOMASA MICROBIANA

	Marzo	Abril	Mayo	Junio
SSOLO	1975,3 d	1587,9 b	1472,5 b	1523,8 b
MHAn	1621,8 d	1502,5 b	1193,0 c	1542,5 b
MG	1855,6 d	1280,9 b	1515,9 a	1561,9 b
MHAn +R	2212,9 c	1408,7 b	1619,3 a	2170,8 a
MG + R	2789,1 a	1977,2 a	1018,7 c	1310,7 b
MHAn+PQ	2279,5 c	1479,2 b	1479,2 b	1260,8 b
MG+PQ	2624,4 b	1540,9 b	1632,2 a	1596,5 b

ANEXO E. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE FEBRERO (PRIMER MUESTREO) PARA RESPIRACIÓN MICROBIANA

Fuente de variación	g/	S.C	C.M	Fc	Ft 0,05	Significancia
Bloques	1	37,34	37,34	0,09	3,89	
Ttos	6	5826,58	971,10	2,46	3	*
Error	6	2369,50	394,92			
Total	13	8233,42				

*No hay diferencias

ANEXO F. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE MARZO (SEGUNDO MUESTREO) PARA RESPIRACIÓN MICROBIANA

Fuente de variación	gl	S.C	C.M	Fc	Ft 0,05	Significancia
Bloques	2	289,09	144,55	1,20	3,89	
Ttos	6	926,76	154,46	1,29	3	*
Error	12	1441,73	120,14			
Total	20	2657,59				

*No hay diferencias

ANEXO G. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE ABRIL (TERCER MUESTREO) PARA RESPIRACIÓN MICROBIANA

Fuente de variación	g/	S.C	C.M	Fc	Ft0.05	Significancia
Bloques	2	18,66	9,33	0,04	3,89	
Ttos	6	3937,52	656,25	2,79	3	*
Error	12	2820,95	235,08			
Total	20	6777,14				

*No hay diferencias significativas

ANEXO H. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE MAYO (CUARTO MUESTREO) PARA RESPIRACIÓN MICROBIANA

Fuente de variación	g/	S.C	C.M	Fc	Ft 0.05	Significancia
Bloques	2	5,53	2,77	0.27	3,89	
Ttos	6	3091,39	515,23	51,19	3	*
Error	12	120,79	10,06			
Total	20					

*Diferencias significativas

ANEXO I. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE JUNIO (QUINTO MUESTREO) PARA RESPIRACIÓN MICROBIANA

Fuente de variación	g/	S.C	C.M	Fc	Ft 0,05	Significancia
Bloques	2	11,59	5,79	1,55	3,89	
Ttos	6	1981,95	330,32	88,18	3	*
Error	12	44,95	3,75			
Total	20	2038,49				

*Diferencias significativas

ANEXO J. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE FEBRERO (PRIMER MUESTREO) PARA BIOMASA

Fuente de variación	gl	S.C	C.M	Fc	Ft0.05	Significancia
Bloques	1	5344,04	5344,04	0,05	3,89	
Ttos	6	779601,46	129933,58	1,16	3	*
Error	6	669927,96	111654,66			
Total	20	1454873,46				

*No hay diferencias

ANEXO K. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE MARZO (SEGUNDO MUESTREO) PARA BIOMASA

Fuente de variación	g/	S.C	C.M	Fc	Ft0.05	Significancia
Bloques	2	1381731,72	690865,86	8,0	3,89	
Ttos	6	3110293,51	518382,25	6,00	3	*
Error	12	1035828,09	86319,00			
Total	20	5527853,31				

*Diferencias significativas

ANEXO L. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE ABRIL (TERCER MUESTREO) PARA BIOMASA

Fuente de Variación	gl	S.C	C.M	Fc	Ft0.05	Significancia
Bloques	2	208570,76	104285,38	2,94	3,89	
Ttos	6	848878,39	141479,73	3,99	3	*
Error	12	426058,94	35504,91			
Total	20	1483508,09				

*Diferencias significativas

ANEXO M. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE MAYO (CUARTO MUESTREO) PARA BIOMASA

Fuente de Variación	gl	S.C	C.M	Fc	Ft 0,05	Significancia
Bloques	2	60503,03	30251,51	1,54	3,89	
Ttos	6	938311,61	156385,27	7,99	3	*
Error	12	234872,17	19572,68			
Total	20	1233686,81				

*Diferencias significativas

ANEXO N. ANÁLISIS DE VARIANZA ($\alpha= 0.05$) PARA EL MUESTREO DEL MES DE JUNIO (QUINTO MUESTREO) PARA BIOMASA

Fuente de Variación	gl	S.C	C.M	Fc	Ft 0,05	Significancia
Bloques	2	355729,65	177864,82	2,11	3,89	
Ttos	6	1582116,07	263686,01	3,12	3	*
Error	12	1013571,41	84464,28			
Total	20	2951417,13				

*Diferencias significativas

**ANEXO O. CORRELACIONES ENTRE VARIABLES EVALUADAS CON RESPECTO A
PRECIPITACIÓN Y HUMEDAD DEL SUELO**

	Precipitación	Humedad del suelo	Biomasa microbiana
Respiración	0,99	0,94	0.95
Biomasa microbiana	0,93	0,93	