

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA CALIDAD DEL SUELO EN  
CULTIVOS DE TABACO ( *Nicotiana tabacum* ) EN LOS MUNICIPIOS DE  
GIRÓN Y PIEDECUESTA (Santander) UTILIZANDO COMO INDICADORES LOS  
GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS”**

**LUZ YANETH PEREZ BERNAL**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA  
BUCARAMANGA  
2008**

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA CALIDAD DEL SUELO EN  
CULTIVOS DE TABACO ( *Nicotiana tabacum* ) EN LOS MUNICIPIOS DE  
GIRÓN Y PIEDECUESTA (Santander) UTILIZANDO COMO INDICADORES LOS  
GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS”**

**LUZ YANETH PEREZ BERNAL**

**Proyecto de Grado para optar al título de Biólogo**

**Director**

**Martha Rocio Chacòn Velasco**

**MSc. Microbiología**

**Codirector**

**Jorge Libardo Pinto**

**Ingeniero Agrónomo**

**MSc. Entomología**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**BUCARAMANGA**

**2008**

## *AGRADECIMIENTOS*

*A Dios por darme la fortaleza para cumplir mi meta en la vida*

*A mis padres por a sus enseñanzas y amor*

*A Ricardo por su apoyo incondicional y su gran amor*

*A mis hijos Daniel y Felipe por su paciencia y su alegría*

*A mis amigos Aura, Clara, Gerardo. Oriana por su amistad, apoyo y alegría*

*DEDICATORIA*

*Dedico este trabajo a mis padres, a mi familia y a mis hijos*

## CONTENIDO

<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	<b>16</b>
<b>1.1 EL SUELO</b>	<b>16</b>
1.1.1 Composición Del Suelo	16
<b>1.2 LA RIZOSFERA</b>	<b>18</b>
1.2.1 Productos Bioquímicos Exudados En La Rizosfera	20
<b>1.3 CICLO BIOGEOQUÍMICOS</b>	<b>20</b>
<b>1.4 GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS</b>	<b>21</b>
1.4.1 GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS DEL CICLO DEL CARBONO	21
1.4.2 GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS DEL CICLO DEL NITRÓGENO	22
1.4.3 Grupos Funcionales De Microorganismos Del Ciclo Del Fósforo	23
<b>1.5 CALIDAD DEL SUELO</b>	<b>24</b>
1.5.1 Indicadores De La Calidad Del Suelo	24
<b>1.6 USO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA AGRICULTURA</b>	<b>27</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>29</b>
2.1 OBJETIVO GENERAL	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>30</b>
3.1 LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	30
3.1.1 Labores De Campo	30
3.2 TOMA DE MUESTRAS	30
3.2.1 Zona No Intervenida (Control)	30
3.3 ANÁLISIS FÍSICO Y QUÍMICO	33
3.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	33
3.4.1 Recuento En Placa De Grupos Funcionales De Microorganismos	33
3.4.2 Coeficiente Relativo De Humedad	35
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>37</b>
4.1 ZONA NO INTERVENIDA GIRÓN Y PIEDECUESTA	37
4.1.1 Análisis Físico y químico	37
4.1.2 Análisis Microbiológicos	38
4.2 ZONAS CULTIVADAS GIRÓN Y PIEDECUESTA	39
4.2.1 Análisis Físico y químico	39

<b>4.2.2 Análisis Microbiológicos</b>	<b>42</b>
<b>4.3 ANÁLISIS ESTADISTICO</b>	<b>54</b>
<b>4.3.1 Analisis De Correlación De Pearson En Cultivos De Tabaco Sano En El Municipio De</b>	<b>54</b>
<b>4.3.2 Analisis De Correlación De Pearson En Cultivos De Tabaco Enfermo En El Municipio De</b>	<b>56</b>
<b>4.3.3 Analisis De Correlación De Pearson En Cultivos De Tabaco Sano En El Municipio De Piedecuesta</b>	<b>58</b>
<b>4.3.4 Analisis De Correlación De Pearson En Cultivos De Tabaco Enfermo En El Municipio De Piedecuesta</b>	<b>59</b>
<b>4.3.5 Test De Anova (Mlg) Para Interacción Entre Cultivos De Tabaco Enfermo, Sano Y Control (Girón- Piedecuesta)</b>	<b>61</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>65</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>66</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>67</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1. Clasificación de las partículas del suelo según su diámetro de acuerdo</b>	<b>17</b>
<b>Tabla 2. Zonas de muestreo municipios de Girón y Piedecuesta</b>	<b>31</b>
<b>Tabla 3. Medios de cultivo para cada grupo funcional de microorganismos</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 4. Promedio Análisis Físico y químico de muestras de suelo no intervenido Girón y Piedecuesta. (N.D= No detectable a la mínima concentración detectada para el método)</b>	<b>37</b>
<b>Tabla 5. Promedio de UFC de grupos funcionales de microorganismos en muestras de suelo no intervenido Palogordo-Girón y Umpalá-Piedecuesta.</b>	<b>39</b>
<b>Tabla 6. Características Físicoquímicas de suelo en cultivos de tabaco sano y enfermo en el municipio de Girón. (N.D= No detectable a la mínima concentración detectada para el método) resultados según Laboratorio Químico de Suelos-Universidad Industrial de Santander.</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 7. Características Físico-químicas de suelo en cultivos de tabaco sano y enfermo en el municipio de Piedecuesta. (N.D= No detectable a la mínima concentración detectada para el método), resultados según Laboratorio Químico de Suelos-Universidad Industrial de Santander.</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 8. UFC /gps de grupos funcionales de microorganismos en cultivos de tabaco sano y enfermo en el municipio de Girón.</b>	<b>43</b>
<b>Tabla 9. UFC /gps de grupos funcionales de microorganismos en cultivos de tabaco sano y enfermo en el municipio de Piedecuesta.</b>	<b>44</b>
<b>Tabla 10. Matriz de correlaciones de Pearson indicando el valor <math>r^2</math> significativo para las variables físicas y químicas con las U.F.C., para las plantas de Tabaco sanas en el municipio de Girón</b>	<b>55</b>

**Tabla 11. Matriz de correlaciones de Pearson indicando el valor  $r^2$  significativo para las variables físicas y químicas con las U.F.C., para las plantas de Tabaco enfermas en el municipio de Girón** **57**

**Tabla 12. Matriz de correlaciones de Pearson indicando el valor  $r^2$  significativo para las variables físicas y químicas con las U.F.C., para las plantas de Tabaco sanas en el municipio de Piedecuesta** **58**

**Tabla 13. Matriz de correlaciones de Pearson indicando el valor  $r^2$  significativo para las variables físicas y químicas con las U.F.C., para las plantas de Tabaco enfermas en el municipio de Piedecuesta** **60**

**Tabla 14. Resumen probabilidades según test de ANOVA tipo MLG de tres factores para las unidades formadoras de colonias en los diferentes medios.** **64**

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1. Ilustración esquemática de la (a) Rizosfera y la Micorrizosfera (Osorio V.N.2007)</b>	<b>19</b>
<b>Figura 2. A) Planta de tabaco enfermo y B) planta tabaco sano (vereda Palogordo-Girón)</b>	<b>32</b>
<b>Figura 3: Halo de degradación izq.: Bacterias Amilolíticas (AM), der. Bacterias Celulolíticas (fotografía tomada por el autor 2007)</b>	<b>38</b>
<b>Figura 4: Contenido de K en cultivos sanos y enfermos en Girón y Piedecuesta.</b>	<b>42</b>
<b>Figura 5: Unidades formadoras de colonia de microorganismos del grupo Amilolíticos para tabaco sano y enfermo en las diferentes zonas en los municipios de Girón y Piedecuesta.</b>	<b>45</b>
<b>Figura 6: A. Colonia (flechas) de microorganismos del grupo NFB-bacterias fijadoras de nitrógeno que utiliza malato como fuente de carbono; B. Colonia de microorganismos del grupo BK-b. Fijadoras de nitrógeno que utilizan glucosa como fc.</b>	<b>46</b>
<b>Figura 7: Unidades formadoras de colonia de microorganismos del grupo bacterias fijadoras de nitrógeno que utilizan glucosa como fuente de carbono (BK) para tabaco sano y enfermo en las diferentes zonas en los municipios de Girón y Piedecuesta.</b>	<b>47</b>
<b>Figura 8: Unidades formadoras de colonia de microorganismos del grupo bacterias fijadoras de nitrógeno que utilizan malato como fuente de carbono (NFB) para tabaco sano y enfermo en las diferentes zonas en los municipios de Girón y Piedecuesta.</b>	<b>48</b>
<b>Figura 9: Colonia y halos de degradación (flecha) de microorganismos solubilizadores de fosfato (PK).</b>	<b>49</b>
<b>Figura 10: Unidades formadoras de colonia de microorganismos del grupo de solubilizadoras de fósforo (PK) para tabaco sano y enfermo en las diferentes zonas en los municipios de Girón y Piedecuesta.</b>	<b>50</b>

## **LISTA DE ANEXOS**

<b>Anexo 1. Agroquímicos utilizados en cultivos de Tabaco</b>	<b>73</b>
<b>Anexo 2. MEDIO DE CULTIVO PARA CELULOLÍTICOS (Word, 1980)</b>	<b>74</b>
<b>Anexo 3 Medio De Cultivo Para Proteolíticos (Word 1980-Modificado Por Andrade, 2003)</b>	<b>75</b>
<b>Anexo 4 Medio De Cultivo Para Amilolíticos (Pontecorvo Et Al, 1953)</b>	<b>76</b>
<b>Anexo 5 Medio De Cultivo Amido-Caseína Agar (Kuster &amp; Williams 1964)</b>	<b>77</b>
<b>Anexo 6 Medio De Cultivo De Burk (Wilson And Knight, 1952)</b>	<b>78</b>
<b>Anexo 7 Medio De Cultivo Nfb (Dobereiner And Day, 1976)</b>	<b>79</b>
<b>Anexo 8</b>	<b>80</b>
<b>Anexo 9</b>	<b>81</b>
<b>Anexo 10</b>	<b>82</b>

## RESUMEN

**TITULO: EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA CALIDAD DEL SUELO EN CULTIVOS DE TABACO (*Nicotiana tabacum*) EN LOS MUNICIPIOS DE GIRÓN Y PIEDECUESTA (Santander) UTILIZANDO COMO INDICADORES LOS GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS”\***

**AUTOR: PÉREZ BERNAL LUZ YANETH\*\***

**PALABRAS CLAVES:** Rizósfera, Grupos Funcionales de microorganismos, Indicadores de calidad, solubilizadores de Fósforo, Fijadores de Nitrógeno, Amilolíticos.

Los microorganismos son un componente importante con funciones esenciales para la fertilidad y actividad del suelo ya que están involucrados en los ciclos biogeoquímicos y disponibilidad de los nutrientes, éstos son utilizados como indicadores biológicos de calidad para determinar el impacto que ejercen las actividades agrícolas sobre el suelo. De cada municipio se seleccionaron 3 zonas cultivadas, se muestrearon parcelas una con plantas de tabaco enfermo y otra con plantas sanas, a la vez se seleccionó un suelo sin explotación agrícola para cada municipio y esta se tomó como muestra control. La evaluación de los grupos funcionales de microorganismos se realizó mediante recuento en placa utilizando medios selectivos para cada grupo, adicionalmente se realizaron análisis físico-químicos como soporte del estado del suelo.

Se encontró que los grupos de microorganismos pertenecientes a los solubilizadores de Fósforo, Fijadores de Nitrógeno y Amilolíticos registraron valores de UFC mayores en los cultivos de tabaco sano que en los enfermos en las dos localidades, demostrando que la deficiencia en estos grupos en los cultivos enfermos indican la baja calidad del suelo. Adicionalmente los análisis físicos y químicos de las muestras de suelo dieron como resultado que el contenido de K, %arcilla y Na eran mayor en los cultivos de tabaco sano que en los enfermos en las dos localidades y es posible que estos elemento también sean una variante en la calidad del suelo, además se observaron altos contenidos de P en el suelo lo cual podría ser producto de la fertilización química.

---

\* \*Proyecto de Grado

\*\*\* Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, UIS, Directora: Martha Rocio Chacón V.Msc, Codirector: Ing. Jorge Libardo Pinto

## ABSTRACT

**TITLE: MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF QUALITY OF THE SOIL IN CROP OF TOBACCO (*Nicotiana tabacum*) IN THE MUNICIPALITIES OF GIRON AND PIEDECUESTA (Santander) USING THE FUNCTIONAL GROUP OF MICROORGANISMS AS BIO-INDICATORS.\***

**AUTHOR: PÉREZ BERNAL LUZ YANETH\*\***

**KEY WORDS:** Rhizosphere, Functional Groups of organisms, quality indicators, Solubilised Phosphate, Nitrogen fixers, Amylolytic.

The microorganisms are an important component with essential functions for fertility and soil activity; they are used as biological indicators of quality, biogeochemical cycles are involve to recycle matter, because they determine the impact exerted by agricultural activities on soil. In each municipality were select three areas of tobacco. In each area were sampling parcels, the first parcel with tobacco sick plants and the second parcel with healthy plants, at the same time was selected a land without farm for each municipality this was taken as a control sample. The assessment of the functional groups was conducted by counting in motherboard, using selective media for each group, further analysis was conducted physical-chemical of these samples as a carrier of the level of the soil.

It was found that the microorganism groups concern of Solubilised Phosphate, Nitrogen fixers and Amylolytic this had higher values of UFC in the healthy tobacco crop than in the diseased in both localities, the last show that deficiency in these diseased groups indicate the quality low of the soil. Additionally, the physical and chemical analysis of soil samples showed the content of K, % clay and Na were higher in the healthy tobacco crop than diseased groups in the two localities and it is possible that these elements are also an option on quality soil, besides were reported high levels of P in the soil which could be product of chemical fertilizer.

---

\* Thesis Project

\*\* Science Faculty, Biology School, UIS, Martha Rocio Chacòn V. Msc Director., Ing. Jorge Libardo Pinto Codirector.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente se sabe que el ciclaje de nutrientes en los ecosistemas edáficos requiere de la participación activa y casi exclusiva de los microorganismos (Andrade G. et al. 1998). Las perturbaciones en el suelo pueden ser medidas no solo a través de parámetros físico-químicos sino también microbiológicos teniendo en cuenta los cambios que puedan sufrir ciertas poblaciones microbianas y hongos micorrízicas en tamaño y actividad (Tao et al. 1992, Requena et al. 1997, Lakzian et al. 2002 en Andrade G. 2004; Smith 2001 en Fortubel F. 2004; Torres M. y Lizarazo L.M 2006), por tal razón éstas poblaciones son ampliamente utilizadas como bioindicadores de calidad y fertilidad, un ejemplo de ello son los grupos funcionales de microorganismos que son poblaciones de bacterias y hongos que participan en uno o varios ciclos biogeoquímicos, interviniendo en el ciclaje de nutrientes y retorno de la materia orgánica en el suelo, facilitando la toma de estos los cuales son esenciales para el buen desarrollo y crecimiento de las plantas (Uribe L.1999; Brigatto U. and Andrade G. 2000; Chen M.A et al., 2003; Andrade G. 2004; Uribe K.et al., 2004; Matsumoto L.S et al., 2005; Singh et al., 1989 en Nogueira et, al., 2006).

Durante la última década los cultivos de tabaco, en el escenario de los municipios de Girón y Piedecuesta, considerados en el ámbito regional como los de más alto potencial económico y arraigo cultural hacia la producción de tabaco tipo negro, han presentado una reducción gradual en la productividad y calidad, además, de un incremento considerable en la problemática de orden fitosanitario. Esta situación ha hecho que los agricultores implementen y desarrollen actividades agrícolas inapropiadas como el uso indiscriminado de agroquímicos, para fertilizar y erradicar plagas o patógenos, sin tomar conciencia de los daños que puedan ocasionar al medio ambiente y los recursos naturales, especialmente el recurso suelo.

Con base en estas consideraciones, el objetivo de este trabajo fue evaluar microbiológicamente la calidad del suelo en cultivos de tabaco (*Nicotiana tabacum*) sanos y enfermos en estos municipios, utilizando como indicadores a los grupos funcionales de microorganismos como: Amilolíticos (AM), Celulolíticos (CEL), Proteolíticos (PROT), fijadores de nitrógeno que utilizan malato como fuente de carbono (NFB), fijadores de nitrógeno que utilizan glucosa como fuente de carbono (BK), solubilizadores de Fosfato

(PK), Actinomicetos (AC), hongos totales (RB), bacterias heterotróficas (TSA) y Pseudomonas fluorescentes (KB), los cuales se aislaron en medios específicos para cada grupo, su evaluación se realizó mediante recuento en placa de Unidades Formadoras de Colonia (UFC), además, se complementaron estos resultados, con el análisis de las características físico-químicas como soporte al estado en que se encontraba el suelo, donde se desarrollaban estos cultivos. Dichos análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de suelos de la Universidad Industrial de Santander (UIS).

La implementación del presente estudio, permitirá tener criterios adicionales para medir el grado de perturbación o alteración que han tenido estas zonas, además obtener conocimientos básicos y aplicados sobre las interacciones benéficas entre plantas y microorganismos de interés en sistemas agrícolas, focalizándose en la ecología de los microorganismos de la rizosfera y la utilización de éstos para mejorar la calidad de los suelos cultivables. Estos resultados permitirán en un futuro la aplicación de nuevos tratamientos agrícolas, basados en el uso de microorganismos benéficos aislados del mismo suelo, para mejorar los cultivos sin la aplicación excesiva de agroquímicos.

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1 EL SUELO

El suelo no es un cuerpo inanimado ni un medio que sostiene solo el crecimiento de las plantas, es un recurso vivo, dinámico, compuesto de partículas de minerales de diferentes tamaños, materia orgánica y numerosas especies de microorganismos morfológica y fisiológicamente distintos, que forman parte de comunidades complejas muy activas y diversas, responsables de transformaciones físico-químicas importantes para la producción agrícola (Sivila R. 1994; Kennedy y Papendick, 1995; Nogales B. 2005; Hernández R. 2005; Saïdou N.*et al.*, 2006), además cumple la función de dar la mayor producción de alimentos y servir como filtrador medioambiental, que limpia el aire y el agua, siendo punto clave del reciclaje de los nutrientes. Este recurso es muy importante porque proporciona sostén mecánico y fuente de nutrición para el crecimiento y desarrollo de las plantas terrestres (Nogales B. 2005; Hernández R. 2005).

### 1.1.1 Composición Del Suelo

El suelo es un sistema de tres fases (sólido, líquido y gaseoso) y de cuatro componentes importantes (mineral, orgánico, agua y aire) los cuales determinan sus características estructurales. Un buen suelo está catalogado como aquel que contiene aproximadamente un 45 % en volumen de materia mineral, 5 % de materia orgánica y 50% de espacio poroso dividido aproximadamente en 25 % de agua y 25% de aire (Hernández R. 2005, Nogales B. 2005).

#### 1.1.1.1 PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO

Las características físicas del suelo están determinadas por la proporción de partículas de diferentes tamaños clasificándose de la siguiente manera (Tabla1): la arena y la grava son catalogadas como partículas grandes del suelo, en mayor proporción químicamente inactivas; los componentes principales de las arcillas finas que son pequeñas partículas

inorgánicas, sirven también como depósitos donde las raíces de las plantas extraen nutrientes. El tamaño y la naturaleza de estas partículas inorgánicas diminutas determinan en gran medida la capacidad de un suelo para almacenar agua, lo cual es vital para todos los procesos de crecimiento de las plantas ([internet 1cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm](http://cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm)).

**Tabla 1. Clasificación de las partículas del suelo según su diámetro de acuerdo**

**al Sistema Internacional (([internet 1cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm](http://internet 1cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm)))**

<i>Diámetro en mm</i>	<i>Denominación</i>
> 2,0	Fragmentos gruesos (grava)
2,0 – 0,02	Arena:
2,0 – 0,2	arena gruesa
0,2 – 0,02	arena fina
0,02 – 0,002	Limo
< 0,002	Arcilla

El agua y el aire son otros componentes físicos indispensables para la respiración de las raíces, con la ausencia de estos dos componentes en el suelo sería imposible que existiera la gran variedad de seres vivos que habitan en el mismo ([cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm](http://cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm)).

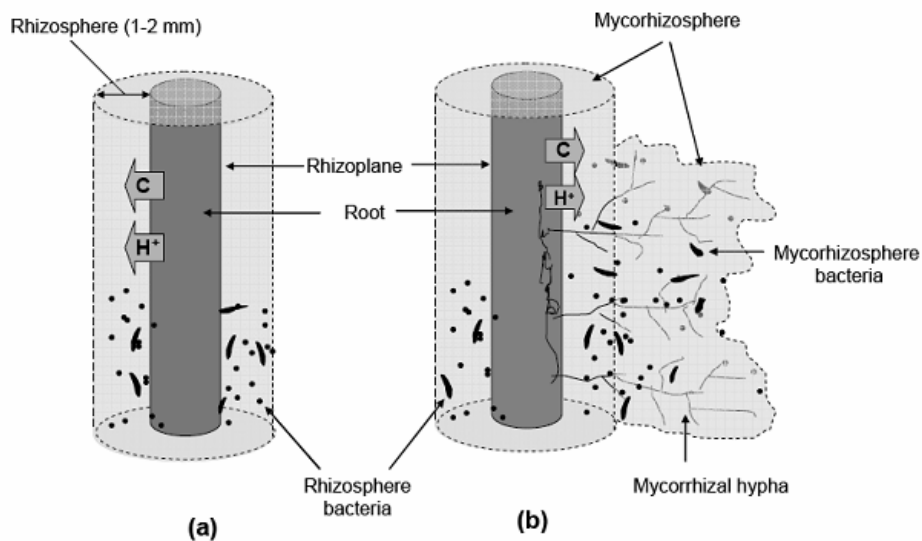
#### **1.1.1.2 PROPIEDADES QUIMICAS DEL SUELO**

El suelo ha sido catalogado como un laboratorio químico muy complejo, donde tienen lugar un gran número de reacciones que implican la mayoría de los elementos químicos conocidos, los elementos del suelo más importantes para la nutrición de las plantas incluyen el fósforo, el azufre, el nitrógeno, el calcio, el hierro y el magnesio. Investigaciones recientes han mostrado que las plantas para crecer necesitan de los microelementos como el boro, cobre, manganeso y zinc ([cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm](http://cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm)).

Los estudios realizados por Vargas Gil y colaboradores (2007) evaluaron los cambios en las características químicas del suelo relacionadas con las diferentes prácticas agrícolas, teniendo en cuenta su porcentaje de materia orgánica, contenido de C, N y P, su porción de C:N, capacidad de intercambio catiónico etc., de igual forma Arenas J. et al. (2005), en su artículo publicado comparan las características químicas del suelo y subsuelo en cultivos de *Phaseolus lunatus* «pallar» en Ica, Perú, como complemento a sus propiedades físicas mostradas anteriormente, estos estudios confirman la importancia de las propiedades físicas y químicas del suelo para evaluar su estado.

## 1.2 LA RIZOSFERA

La rizósfera es una zona de interacción única y dinámica entre raíces de plantas y microorganismos del suelo, ésta región especializada está caracterizada por la presencia de una gran cantidad de microorganismos, muchos de los cuales pueden ser benéficos y a la vez potencialmente patógenos y a la vez una intensa actividad biológica (Kleupfel, 1993 en Arenas J. et al., 2005), se localiza en la parte del suelo inmediata a las raíces, tal que al extraer una raíz es aquella porción de tierra que queda adherida a la misma; Lynch en Hernández M. y Escalona A.(2003) define a la rizósfera como toda aquella porción de suelo que está fuertemente influenciada por las raíces de las plantas, la cual a su vez se divide en tres partes: Rizoplano (microorganismos pegados a la raíz) a medida que aumenta la distancia desde la rizosfera la diversidad microbiana disminuye; Endorrizosfera (microorganismos dentro de la raíz), Ectorrizosfera es el área donde los microorganismos actúan de manera circundante a la raíz y Micorrizosfera es la parte del suelo donde se ubican las micorrizas que se define como asociaciones simbióticas entre hongos y plantas (Figura 1), estas interacciones planta-microorganismo favorecen la toma de agua y nutrientes, particularmente P, Cu, y Zn por acción de las micorrizas (Buyer J., et al. 2002; Hernández M. y Escalona A. 2003; Arenas J. et al. 2005; Vélez J. et al. 2006; Sylvia 1999; Hernández R. 2005; Jenkinson and Ladd, 1981 en Bijayalaxmi N. D. and Yadava P.S 2006; Marschner y Dell 1994 en Osorio V. N 2007).



**Figura 1. Ilustración esquemática de la (a) Rizosfera y (b) la Micorrizosfera (Osorio V.N. 2007)**

Las características de la rizosfera varían con respecto a la especie de planta y las condiciones del suelo (Osorio V. N. 2007), además otra principal razón, es la diferencia en los exudados radiculares (Van der Krift et al., 2001 and Warembourg et al., 2003, Valé M. et al., 2005), los cuales facilitan la disponibilidad de componentes orgánicos que estimulan a los microorganismos, favoreciendo el ciclaje y disponibilidad de minerales para todos los procesos metabólicos tanto de plantas como de microorganismos (Grayston et al., 1996, Kuzyakov and Cheng, 2001 and Kuzyakov, 2002 en Valé M. et al., 2005). Las condiciones físicas y químicas predominantes en la rizósfera son útiles para entender el rol que juegan los microorganismos, particularmente las bacterias sobre la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Hernández L. y Escalona M. 2003). Por lo que respecta a la convivencia entre plantas, a medida que aumenta la proximidad entre raíces, la competencia por el espacio, agua y alimento, se hace mayor (Nunan, et al., 2003 en Nogales B. 2005).

Según Atlas y Bartha 1997, el efecto rizósfera sobre la población microbiana del suelo puede ser medida comparando la densidad poblacional (unidades formadoras de colonias, UFC) entre la rizósfera del suelo (R) y el suelo no rizosférico (S), por lo cual la

proporción de R/S es empleada para diferenciar el tamaño poblacional en los dos sitios (Delgado M. 2005; Vélez J. et al. 2006).

### **1.2.1 Productos Bioquímicos Exudados En La Rizosfera**

Las bacterias rizosféricas participan en los ciclos biogeoquímico de nutrientes determinando su disponibilidad para las plantas y la comunidad microbiana del suelo, además son capaces de usar un amplio rango de moléculas orgánicas complejas como ligninas, celulosas y otros polisacáridos, también pueden liberar a la rizósfera carbohidratos, aminoácidos, lípidos y sustancias que promueven el crecimiento de las plantas como vitaminas y giberelinas entre otros, lo cual estimula la actividad y el número de microorganismos del suelo que las rodea, mejorando el vigor y productividad de las plantas (Garbaye, 1991 and Degens et al., 2000 en Matsumoto L. et al., 2005; Karthikeyan B. et al., 2008). La riqueza en compuestos orgánicos en la rizosfera conduce a intensas actividades e interacciones microbianas, algunos estudios indican que la quimiotaxis a los exudados de raíz es uno de los factores que influyen en la llegada de los microorganismos a la rizosfera (*Buyer J. et al. 2002; Schloter M., Bach J and et al., 2003; Brigatto U. and Andrade G. 2004; Caballero M. 2005*), cerca del 40% del carbono fijado en la fotosíntesis, en la parte aérea de la planta, puede ser excretado a la rizosfera, lo que afecta positivamente a la mayoría de las bacterias que ahí habitan, las cuales se nutren de los exudados de las raíces que emiten las plantas, como azúcares, vitaminas, factores de crecimiento, ácidos orgánicos, glúcidos y mucigel (*Hernández M. y Escalona A. 2003; Karthikeyan B. et al. 2008*).

### **1.3 CICLO BIOGEOQUIMICOS**

Actualmente se sabe que el ciclaje de nutrientes en los ecosistema edáfico requiere de la participación activa y casi exclusiva de los microorganismos (*Andrade G. et al. 1998; Uribe O. et al. 2004*), estos desempeñan funciones de gran importancia en relación con procesos de edafogénesis como; ciclos biogeoquímico de elementos (C, N, P, S, Fe); fertilidad de las plantas y protección frente a patógenos; degradación de compuestos xenobióticos, etc. (*Nogales B. 2005*). Éstos microorganismos pueden participar en uno o

más ciclos biogeoquímicos (Matsumoto L.S. et al., 2005), si se presentaran disturbios en algunos de los estados de éstos ciclos, pueden ser detectados a través de los efectos sobre el crecimiento de las plantas (Brigatto U. and Andrade G. 2000).

Se ha demostrado que las diferentes prácticas agrícolas, el tipo de plantas que se cultivan, la fertilización, deforestación, los tratamientos con pesticidas y herbicidas tienen un efecto sobre la dinámica y diversidad microbiana del suelo y que a la vez pueden alterar los ciclos biogeoquímicos cambiando los contenidos de nutrientes en el suelo y su disponibilidad (Yang et al., 2000; Buckley, *et al.*, 2003; Girvan, *et al.*, 2004; Sun, *et al.*, 2004; El Fantroussi, *et al.*, 1999 en Nogales B. 2005; Lemenih et al., 2005).

## **1.4 GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS**

Los grupos funcionales de microorganismos son aquellas poblaciones de microorganismos que participan en una misma etapa en la transformación bioquímica de compuestos orgánicos e inorgánicos en el ambiente, también son los directos ejecutores de la mayoría de las etapas de los ciclos biogeoquímicos (C, N, P y S) de esta forma promueven la recirculación de la materia orgánica y de los diferentes elementos para que se encuentren disponibles para ser usados una y otra vez por otros organismos (Pozuelo G. y José Manuel 2002; Matsumoto *et al.*, 2005; Torres M. y Lizarazo L. M. 2006).

La relación entre los ciclos del C, N, P y S y los grupos funcionales de microorganismos, y su influencia sobre el crecimiento vegetal, son un indicador potencial en la evaluación de disturbios medioambientales en el suelo (Anderson 2003; Brigatto U. y Andrade G. 2003; Matsumoto L.S. et al., 2005).

### **1.4.1 GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS DEL CICLO**

#### **DEL CARBONO**

El mayor depósito de carbono se encuentra en la materia orgánica muerta llamado humus (Madigan et al., 2000), durante la vida de las plantas, una porción de la materia orgánica

producida es constantemente liberada por la raíz por medio de los exudados radiculares, los cuales son rápidamente absorbidos por la microbiota de la rizosfera.

Otra parte viene desde el depósito de hojas, ramas, frutas y flores muertas, lo cual se acumula sobre la superficie del suelo formando una capa orgánica de hojarasca. (Brigatto U. y Andrade G. 2003). Los microorganismos utilizan estos residuos, como substratos para la energía y también como fuentes de carbono en la síntesis de nuevas células, la presencia o ausencia de estos substratos pueden incrementar o disminuir las poblaciones microbianas (Andrade G. 2004).

Los grupos funcionales de microorganismos que pertenecen al ciclo del Carbono son: Celulolíticos, Amilolíticos y Proteolíticos, los cuales pueden estar conformados por hongos, actinomicetos y bacterias. Los microorganismos Celulolíticos producen exoenzimas llamadas celulasas; los Amilolíticos por medio de las amilasas hidrolizan almidones los cuales son una reserva común de polisacáridos que sirven como reservas de energía producidas en las plantas; y el grupo de los Proteolíticos los cuales pueden actuar en los ciclos del Carbono y Nitrógeno, producen enzimas extracelulares llamadas proteinasas y peptidasa, las proteinasa degradan proteínas liberando péptidos los cuales retornan para ser atacadas por las peptidasa para así liberar aminoácidos los cuales son transportados al interior de las células, los aminoácidos sirven como fuente de carbono o nitrógeno (Andrade G. 2004).

#### **1.4.2 GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS DEL CICLO DEL NITROGENO**

El Nitrógeno es un elemento limitante para el crecimiento de la planta, algunas bacterias de la rizosfera tienen la habilidad de fijar  $N_2$  y transformarlas a formas orgánicas que puedan ser usadas por las plantas. Las bacterias fijadoras de nitrógeno son un pequeño grupo de bacterias Gram positivas y Gram negativas, las cuales pueden interactuar con las raíces de las plantas de dos formas: de vida libre o simbiótica, al igual que algunos protozoos.

Estos grupos fijadores de Nitrógeno son responsables en la adición de  $\text{NH}_3^+$  al suelo directamente sobre la raíz o la rizósfera, dependiendo de la asociación establecida entre las bacterias y las raíces. Las moléculas de amonio pueden entrar en la biosíntesis de los aminoácidos o pueden ser transformadas en nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), el cual pueden ser fuente de nitrógeno biológicamente activo para la biosíntesis de aminoácidos y proteínas esenciales en el metabolismo de las plantas, o ser usado como aceptor final de electrones en las rutas de fermentación, para así obtener energía de algunos productos del metabolismo de microorganismos anaeróbicos facultativos (Brigatto U. and Andrade G. 2003; Andrade G. 2004). Unos de los microorganismos representativos de este grupo y que ha sido más estudiado es *Azospirillum spp*, la utilización de ésta especie, se ha referenciado que incrementa el crecimiento de la planta y la producción en un 5-30%, debido a la asimilación de nutrientes, producción de reguladores de crecimiento como auxinas, giberelinas y citoquininas (Havlin et al., 1999, Okon 1994 en Osorio V. N. 2007).

### **1.4.3 Grupos Funcionales De Microorganismos Del Ciclo Del Fosforo**

Los grupos funcionales del ciclo del P están constituidos por bacterias y hongos que son capaces de solubilizar P que se encuentra de forma insoluble (Rao 1992), entre ellos bacterias del género *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Bacillus* y algunos hongos como: *Penicillium*, *Aspergillus* y hongos *micorrizicos* (Domey and Lipmann 1988, Patgiri and Bezbaruah 1990, Rao 1992, Rokade and Patil 1993, Whitelaw 2000 en Osorio V.N. 2007). Las bacterias solubilizadoras de P liberan sustancias que promueven el crecimiento radicular como hormonas, enzimas, antibióticos, que aumentan la disponibilidad de nutrientes (ejm. Mn y Fe), y actúan como biocontrol de patógenos de plantas (Andrade G. 2004; Rao 1992, Premono et al. 1994, Toro et al. 1996, Bashan and Holguin 1998, Azcon and Barea 1996, Koplek, Lifshitz and Schroth 1988, Frankenberg and Arshad 1995 en Osorio V.N. 2007).

La determinación de microorganismos solubilizadores de fosfato y comunidades de hongos micorrizicos, son importantes como bioindicadores de disturbios en el ciclo y por ende su influencia directa en el crecimiento de las plantas (Brigatto U. and Andrade G. 2003; Andrade G. 2004). La mayoría de suelos agrícolas contienen altas reservas de P,

debido a su acumulación por la aplicación de fertilizantes de P, sin embargo una gran porción de fosfatos inorgánicos son aplicados al suelo por medio de fertilización química y son rápidamente inmovilizados tan pronto se aplica y empiezan a ser no disponibles para las plantas, el fenómeno de fijación y precipitación del P en el suelo es generalmente rápida dependiendo del pH y tipo de suelo.(Rodríguez H. y Fraga R. 1999; Brigatto U and Andrade G. 2003; Sylvia et al.1998 en Osorio N.V. 2007).

## **1.5 CALIDAD DEL SUELO**

El suelo es un recurso natural sin estándares de calidad definidos; por su variabilidad, es difícil establecer alguna medida física, química o biológica que pueda ser considerada lo suficientemente adecuada para reflejar la calidad, pues es necesario considerar todos los factores que pueden condicionar su funcionamiento dependiendo el uno del otro, dificultándose así la regulación de la calidad de este recurso, es necesario entonces medir aquellas propiedades del suelo que sean especialmente sensibles a los cambios generados por las prácticas de manejo y cuyos valores reflejarían la calidad del recurso (Bandick y Dick, 1999 en Torres M. y Lizarazo L.M. 2006). Por ejemplo, un incremento en la biomasa o actividad del suelo no pueden ser siempre interpretadas como un aumento en la calidad del suelo, sin embargo en algunos casos sí podrían asociarse (Kennedy, A C y Papendick, R I.1995).

### **1.5.1 Indicadores De La Calidad Del Suelo**

Los indicadores de la calidad del suelo son necesarios para medir las alteraciones en la función del suelo como resultado de los cambios en el manejo de éste recurso, muchas técnicas están disponibles para medir la actividad microbiana, pero estos valores no siempre pueden relacionarse directamente con una buena calidad del suelo. El desafío es identificar un parámetro del suelo que sea medible y pueda ser utilizado para formular una práctica de manejo adecuada para mejorar y aumentar la calidad del suelo (Kennedy A.C and Papendick RI. 1995).

La calidad del suelo está controlada por tres componentes, el físico, el químico y el biológico que interactúan entre sí, los parámetros específicos que pueden ser los más utilizados para asociarlos con la calidad del suelo, están bajo debate y probablemente la selección de un set de datos apropiados para tal análisis (Font L., Bernardo C. y Antonio Del C. 2002). La fertilidad del suelo está, en última instancia, controlada por los procesos biológicos y puede ser modificada interactuando con ellos, sin embargo, se le evalúa fundamentalmente a través de las propiedades físicas, químicas y rendimiento de los cultivos, dejando en un segundo plano los aspectos biológicos, quizá por su complejidad de estudio e interpretación (Kennedy A.C and Papendick R.I. 1995; Calero 1999 en Font L., Bernardo C. y Antonio Del C. 2002).

#### **1.5.1.1 INDICADORES QUÍMICOS Y FÍSICOS DE LA CALIDAD DEL SUELO**

Muchos de los elementos como N, C, S, P, Fe, Mn etc. involucrados en los ciclos biogeoquímicos pueden ser utilizados como indicadores químicos del suelo, de acuerdo a su cantidad presente se puede determinar las posibles alteraciones medioambientales en el suelo, en base a los valores estándares en la caracterización físico y química del suelo, por ejemplo, cuando hay deficiencia de N en el medio esto podría alterar el ciclo normal del N, otro factor sería la incorporación de materia orgánica al suelo la cual puede aumentar la disponibilidad de nutrientes para las plantas pero afectando las poblaciones microbianas del suelo, influyendo en el crecimiento de éstas (Crecchio C. et al. 2006).

LA APLICACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA TAMBIÉN FAVORECE LA REDUCCIÓN DEL MN (HUE, VEGA AND SILVA 2001 EN OSORIO V.N 2007), EL MN JUEGA UN PAPEL IMPORTANTE EN LA RESISTENCIA DE LAS PLANTAS A ENFERMEDADES, EL MN AL IGUAL QUE EL CU, ES REQUERIDO PARA LA SÍNTESIS DE LIGNINA, LO CUAL INCREMENTA LA RESISTENCIA DE LOS TEJIDOS RADICULARES A LA PENETRACIÓN DE PATÓGENOS, SI HAY DEFICIENCIA DE ESTE, LAS PLANTAS SON MÁS SUSCEPTIBLES A ATAQUES DE PATÓGENOS, OTROS FACTORES IMPORTANTES SON EL CONTENIDO DE AGUA Y LA RETENCIÓN DE AGUA, CRECIMIENTO RADICULAR PROPORCIONANDO UN MEJOR HÁBITAT PARA LOS MICROORGANISMOS EDÁFICOS (CÉSPEDES M.C, STONE A. AND DICK R. 2005; OSORIO V. N 2007).

Los suelos muestran gran variedad de aspectos, fertilidad y características químicas en función de los materiales minerales y orgánicos que lo forman, el color es uno de los criterios más simples para calificar las variedades de suelo. La regla general, aunque con excepciones, es que los suelos oscuros son más fértiles que los claros, la oscuridad suele ser resultado de la presencia de grandes cantidades de humus. A veces, sin embargo, los suelos oscuros o negros deben su tono a la materia mineral o a humedad excesiva; en estos casos, el color oscuro no es un indicador de fertilidad ([cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm](http://cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm); Arenas J. et al. 2005).

#### **1.5.1.2 INDICADORES MICROBIANOS DE LA CALIDAD DEL SUELO**

En este sentido, los grupos funcionales de microorganismos han sido utilizados como bioindicadores ecológicos ya que determinan en gran parte la fertilidad del suelo y son un factor importante para la producción agrícola, teniendo en cuenta su actividad y/o tamaño poblacional, además el uso de indicadores microbiológicos resulta de gran importancia para evaluar el efecto e impacto de la fertilización continuada sobre la fertilidad del suelo (Kennedy A C, Papendick, R I. 1995; Guerrero et al., 1997; Calero et al., 1999 en Font L. 2002; Lidieth, U. 1999; Hernández L. y Escalona M. 2003; Brigatto U. and Andrade G. 2003; Schloter *et al.*, 2003; Andrade G.2004; Fontúrbel, F. 2004; Saïdou N.*et al.*, 2006).

Los procesos de descomposición de la materia orgánica, la movilización de nutrientes y la capacidad de intercambio catiónico son muy importantes para mantener la disponibilidad de estas fuentes nutricionales (F.C.S. Vieira & E. Vahas, 2005; Smit & Smit, 2001; Guerrero R., Berlanga M. 2005), ayudando a las plantas en la asimilación de estos metabolitos que son esenciales en su crecimiento y en la circulación cíclica de los nutrientes del suelo en los ciclos biogeoquímicos (Ponzuelo 1991; Matsumoto *et al.*, 2005), por tal razón es de utilidad estudiar la comunidad microbiana del suelo para entender muy bien su dinámica y su contribución en la buena formación estructural del suelo (Fontúrbel, F. 2004; Lidieth, U. 1999; Bijayalaxmi N. and Yadava P. 2006). Hay que tener en cuenta los conocimientos sobre el impacto y perturbaciones sobre los sistemas edáficos. (Schloter M., Dilly O. and Munch J.C. 2003; Kennedy A C. and Papendick R I.2005; Céspedes M.C, Stone A. and Dick R. 2005).

## 1.6 USO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA AGRICULTURA

Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación de suelos con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas (Martínez, 2002 en Elein A., Leyva A., Hernández A. 2005; Crecchio C. et al. 2007). Los microorganismos encargados de estas funciones importantes en la agricultura son llamadas Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPB sigla en inglés) son definidas como bacterias de vida libre en el suelo, rizósfera, rizoplano, y filósfera, que bajo ciertas condiciones son benéficas para las plantas, además son miembros activos de los grupos funcionales de microorganismos. Estas bacterias incluyen diversos géneros como *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Anabaena*, *Arthrobacter*, *Azoarcos*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Frankia*, *Hydrogenophaga*, *Kluyvera*, *Microcoleus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, and *Vibrio* and including the legume-symbiotic genus *Rhizobium* (Hillel D. 2005).

La aplicación de fertilizantes químicos pueden aumentar la cantidad de exudados radiculares y las prácticas agronómicas inadecuadas ocasionan cambios en la estructura de la comunidad microbiana en la rizósfera del suelo causando un desequilibrio en este (Ocampo J. et al.2001; Schloter M., et al., 2003; Vargas S. , Pastor S. and March G.J. 2007). Durante años numerosas investigaciones se han enfocado en el estudio de la dinámica de los microorganismos edáficos, determinando su función, estructura y procesos metabólicos para su posible uso en la agricultura, por tal razón se ha venido implementado a los microorganismos del suelo (PGPB) como biofertilizantes y agentes de control, para mejorar y aumentar la producción agrícola (Cervantes M. 2005; Suslov TV 1982 y Glick BR.1995 en Osorio V.N. 2007; Karthikeyan B. et al., 2008).

El manejo de estos microorganismos del suelo, que están involucrados en varios ciclos biogeoquímicos (C, N, P, S, etc.), salud de las plantas, y recuperación de los suelos,

ofrecen nuevas posibilidades de tratamientos biológicos, en suelos agrícolas, el mejoramiento de la calidad y la diversidad de las poblaciones microbianas a partir de la incorporación de cepas seleccionadas según sus funciones específicas es un proceso relevantes que contribuye al mejor establecimiento, desarrollo y rendimiento de los cultivos siendo una alternativa para lograr mejores cultivos, además proporcionan a las plantas resistencia a enfermedades (Céspedes M.C, Stone A. and Dick R. 2005; León T. 2005; Caballero M. et al., 1992 en Stewart S. y Díaz M 2007). Se ha demostrado que la aplicación de bioproductos a partir de microorganismos rizosféricos en la agricultura, provoca incrementos en la productividad de los cultivos, si se trabaja con cepas nativas aumenta la factibilidad biológica de los mismos (Hernández A. et al., 2003).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

EVALUAR LA CALIDAD DEL SUELO EN CULTIVOS DE TABACO (*Nicotiana tabacum*) EN LOS MUNICIPIOS DE GIRÓN Y PIEDECUESTA (Santander) UTILIZANDO COMO INDICADORES GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS Y ANALISIS FISICO-QUIMICOS.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar el estado microbiológico, físico y químico de suelos no intervenidos ni cultivados que pertenezcan a la misma región como control, utilizando como indicadores los grupos funcionales de microorganismos.
- Caracterizar mediante parámetros microbiológicos, físicos y químicos suelos cultivados con tabaco (*Nicotiana tabacum*) sanos y enfermos, en zonas de mayor producción en los municipios de Girón y Piedecuesta.
- Comparar el estado microbiológico, físico y químico de la muestra control con las muestras de suelo cultivado con tabaco (sanos y enfermos) para establecer el grado de deterioro y calidad del suelo, teniendo en cuenta el tamaño de las poblaciones encontradas.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO**

##### **3.1.1 Labores De Campo**

El proyecto se llevó a cabo en las veredas: Llano grande (787 m.s.n.m), Quebrada Seca (736msnm) y Palogordo (863 m.s.n.m) del municipio de Girón; Guatiguará (896msnm), Umpalá (794msnm) y Pescadero (650 m.s.n.m) del municipio de Piedecuesta.

El municipio de Girón está localizado en el departamento de Santander a nueve (9) Km. de distancia de Bucaramanga, el municipio se localiza en la zona intertropical ecuatorial, con una extensión total de 475.14 km<sup>2</sup>, su altitud oscila entre los 150 y 1.500 metros sobre el nivel del mar (msnm), La temperatura promedio anual del Municipio es de 24.58°C. (DIAGNOSTICO P. O. T. MUNICIPIO DE GIRÓN – SANTANDER). El municipio de Piedecuesta, su altitud oscila entre 800 y 1200 msnm de tierras quebradas con altas pendientes haciendo parte del cañón de Chicamocha a 600msnm y el páramo de Berlín a 3600msnm presenta pisos climáticos cálidos a páramo. (DIAGNOSTICO P. O. T. MUNICIPIO DE PIEDECUESTA – SANTANDER)

#### **3.2 TOMA DE MUESTRAS**

##### **3.2.1 Zona No Intervenida (Control)**

De las mismas veredas escogidas para Girón (Llano Grande, Quebrada Seca y Palogordo) y en Piedecuesta (Guatiguará, Umpalá y Pescadero), se seleccionaron para cada municipio parcelas de suelo sin explotación agrícola con el objetivo de valorar los

cambios ocurridos en el suelo, producto de la fertilización y establecimiento del cultivo estas muestras se tomaron como control.

Se tomaron varias submuestras de suelo rizosférico formando una muestra mixta aproximadamente de 1kg, se colocaron en bolsas herméticas y almacenadas a 4°C, fueron llevadas al laboratorio, para realizar posteriormente los análisis físicos-químicos y microbiológicos los cuales fueron procesados antes de 24 horas (Créptin y Jonson 2000; Brigatto U. and Andrade G. 2004; Fontúrbel F. 2004; Nogueira M. et al., 2006).

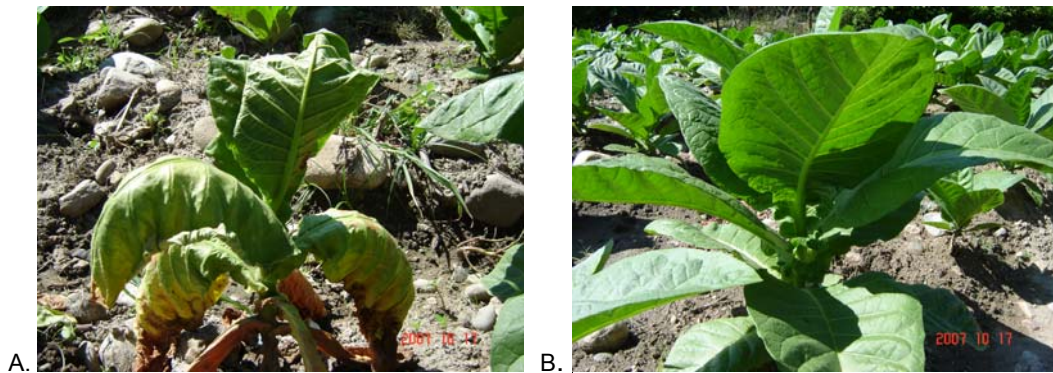
### 3.2.2 Zonas Girón Y Piedecuesta

En cada vereda involucrada dentro de la investigación, se escogieron las zonas de mayor área sembrada y dentro de estas zonas una finca que ofreciera las mayores garantías en cuanto a producción de tabaco (*Nicotiana tabacum*) y colaboración por parte de los productores para realizar el estudio. En cada una de las de las zonas se delimitaron parcelas o lotes no intervenidos, parcelas de cultivos de tabaco sanos y parcelas de cultivo de tabaco enfermo (Tabla 2). Los lotes enfermos se caracterizaron solo de forma visible por tener plantas dormidas, de poco crecimiento y hojas amarillas pero sin identificación previa de su posible enfermedad. Además, se tuvo en cuenta que las plantas estuvieran en un rango de edad entre 1 a 3 meses (figura 2).

**Tabla 2. Zonas de muestreo municipios de Girón y Piedecuesta**

GIRON			PIEDECUESTA		
<b>ZONA 1 (Llano Grande)</b>			<b>ZONA 1 (Guatiguará)</b>		
Muestra de suelo Tabaco Sano	Muestra de suelo Tabaco Enfermo	Muestra control	Muestra de suelo Tabaco Sano	Muestra de suelo Tabaco Enfermo	Muestra control
<b>ZONA 2 (Quebrada Seca)</b>			<b>ZONA 2 (Umpalá)</b>		
Muestra de suelo Tabaco Sano	Muestra de suelo Tabaco Enfermo	Muestra control	Muestra de suelo Tabaco Sano	Muestra de suelo Tabaco Enfermo	Muestra control
<b>ZONA 3 (Palogordo)</b>			<b>ZONA 3 (Pescadero)</b>		
Muestra de suelo Tabaco Sano	Muestra de suelo Tabaco Enfermo	Muestra control	Muestra de suelo Tabaco Sano	Muestra de suelo Tabaco Enfermo	Muestra control

De acuerdo a la metodología de Creptin y Jonson (2000) de cada parcela se tomaron de forma aleatoria 25 submuestras de suelo, con un barreno de 20 a 30cm de profundidad cerca a la raíz de la planta de tabaco, fueron tomadas de forma aleatoria formando una muestra mixta de 1k de suelo por parcela, las muestras se colocaron en bolsas herméticas y almacenadas a 4°C, fueron llevadas al laboratorio, para realizarles posteriormente los análisis físicos-químicos y microbiológicos los cuales fueron procesados antes de 24 horas (Créptin y Jonson 2000; Ulisses B. and Galdino A. 2004; Fontúrbel F. 2004; Nogueira M. et al., 2006).



**Figura 2. A) Planta de tabaco enfermo y B) planta tabaco sano (vereda Palogordo-Girón)**

Paralelamente se elaboró un historial de los diferentes agroquímicos utilizados por los agricultores para los cultivos en cada parcela y se registraron con sus respectivos nombres como información útil del manejo de éstos para los posteriores análisis (Anexo 1). La recolección de muestras se realizó cada 20 días de acuerdo al cronograma de actividades del ICA (Instituto Colombiano Agropecuario) y la disponibilidad de materiales en el laboratorio, se analizaron 9 muestras para cada localidad y un total de 18 muestra de suelo.

### **3.3 ANÁLISIS FÍSICO Y QUÍMICO**

Cada muestra de suelo fue homogenizada cuidadosamente, se tomaron 10g de suelo, los cuales fueron destinados para realizar los análisis microbiológicos; y 500g para los análisis físico-químicos.

Para la caracterización Físico-Química de las muestras colectadas se llevaron al Laboratorio de suelos de la Universidad Industrial de Santander (UIS), los parámetros medidos fueron: textura (Análisis de Bouyucos), pH (potenciómetro relación 1-:1 agua: suelo al aire), materia orgánica (Walkley Black con dicromato de potasio), fósforo (Brayll como P), calcio-magnesio-potasio-cobre-zinc-hierro-manganeso (extracción de acetato de amonio 1N y E.A.A), aluminio (Yuan – E.A.A), boro (azometino –H calorimétrico).

### **3.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el laboratorio Microbiológico y Tejidos Vegetales UDES.

Para el análisis microbiológico se tomaron 10g del suelo homogenizado, y se suspendieron en 90ml de solución salina al 0.85%. Se agitó vigorosamente durante 20 minutos, posteriormente se tomaron alícuotas de 1ml para hacer diluciones seriadas 1/100, 1/1000, 1/10000 etc. (Ulisses B. and Galdino A. 2004; L.S.Matsumoto et al., 2005).

#### **3.4.1 Recuento En Placa De Grupos Funcionales De Microorganismos**

Se utilizó la técnica de recuento en placa, de las diluciones seriadas se tomaron alícuotas de 0.1ml y por siembra en superficie se sembraron en los medios de cultivo selectivos para cada grupo funcional (Tabla 3 y Anexos del 2 al 10).

Se cuantificaron los grupos funcionales de microorganismos relacionados con: el ciclo del Carbono, las bacterias Celulolíticas (CEL), Amilolíticas (AM) y Proteolíticas (PROT); el

ciclo del Fósforo, las bacterias solubilizadoras de P (PK); y el del Nitrógeno, las bacterias libres fijadoras de N (BK) que utilizan la glucosa como fuente de C y las bacterias fijadoras de nitrógeno que utilizan malato como fuente de carbono (NFB); también se realizó recuento de Bacterias Heterotrófica (TSA), Hongos totales (RB), Pseudomonas fluorescentes (KB) y Actinomicetos (AC), las siglas asignadas fueron de acuerdo al medio de cultivo selectivo para cada grupo de microorganismos (M.A.Nogueira et al., 2006; L.S.Matsumoto et al., 2005; Torres M. y Lizarazo L.M. 2006; Bernal E. 2006).

**Tabla 3. Medios de cultivo para cada grupo funcional de microorganismos**

<b>GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS</b>	<b>MEDIO DE CULTIVOS</b>
<b>Amilolíticos</b>	Medio de Pontecorvo <i>et al.</i> (1953)
<b>Celulolíticos</b>	Medio de Wood (1980)
<b>Proteolítico</b>	Medio de Wood (1980 modificado por Andrade, 2003);
<b>Fijadores de nitrógeno con FC glucosa</b>	Medio Burk (Wilson and Knight, 1952);
<b>Actinomicetos</b>	Medio amido-caseína agar, (Kuster & Williams 1964)
<b>Fijadoras de nitrógeno con malato FC</b>	Medio Nfb, (Dobereiner and Day, 1976);
<b>Solubilizadores de fosfato</b>	Medio PK
<b>Pseudomonas fluorescentes</b>	Medio King B
<b>Hongos Totales</b>	Medio Rosa de Bengala
<b>Bacterias heterotróficas</b>	Medio TSA

Según Brigatto U. and Andrade G. (2004); Nogueira M. et al.,(2006); Bernal E.(2006), para en conteo de colonias se tiene en cuenta el tiempo de incubación y las características del medio de cultivo. Las placas se incubaron a 28 °C, se realizó recuento de Bacterias Heterotróficas-TSA y Pseudomonas fluorescentes-KB (2 días después de la siembra); actinomicetos-AC, fijadores de nitrógeno-NFB-BK y solubilizadores de P-PK (3 días) y hongos totales-RB, amilolíticos-AM, celulolíticos-CEL y proteolíticos-PROT (5 días) las

UFC se expresaron por gramo de suelo seco. Las colonias consideradas positivas para actividad de solubilización de P, CEL, AM y PROT fueron aquéllas que presentaron un halo de degradación (figura 3). En el caso de las bacterias libres fijadoras de nitrógeno NFB y BK se consideraron positivas todas las colonias que crecieron en el medio de cultivo al igual que los demás grupos (Brigatto U. and Andrade G. 2003; Andrade G. 2004; Torres M. y Lizarazo L.M. 2006).

### 3.4.2 Coeficiente Relativo De Humedad

A cada muestra se le determinó el coeficiente relativo de humedad, pesando 20g de suelo homogenizado, el cual se dejó secar en un horno a 80°C durante 2 horas,

después se pesó nuevamente la muestra y se realizó la fórmula correspondiente:

$$\frac{WH - WS}{WS} * 100 = \%H$$

Donde:

WH=peso húmedo de la muestra

WS=peso seco de la muestra (después de secado en el horno a 80°C)

Después se tomo el valor de WH y WS y se realizó una regla de tres:

$$\begin{array}{l} WH(g) \text{ -----} \rightarrow WS(g) \\ 1(g \text{ de suelo}) \text{ -----} \rightarrow X \end{array}$$

$$X=HR \text{ (humedad relativa)}$$

Las UFC obtenidas del recuento se dividieron sobre HR, expresado los datos en UFC/gps (unidades formadoras de colonia en gramos de peso seco):

$$UFC/HR = UFC/gps$$

### **3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Con el fin de encontrar diferencias significativas del número de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) para cada grupo funcional entre las diferentes muestras (tabaco sano, taba enfermo y control) en cada zona, inicialmente se realizó una prueba de Kolmogorov-smimov para evaluar si los datos seguían una distribución normal, también se revisó si había homogeneidad de varianzas utilizando el test de Levene's, Luego se realizó un análisis de varianzas (ANOVA tipo MLG  $p < 0.05$ ) para comparar las medias de cada una de las variables analizadas e identificar diferencias significativas en cada tratamiento (UFC-grupos funcionales). Para los resultados físicos y químicas de las muestras se realizaron pruebas de correlación de Pearson para identificar si estos podría influir sobre las variables microbiológicas. Para éstos análisis estadísticos se empleo el programa SPSS 13.0 (copyright 1989-2003 SPSS Inc.)

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 ZONA NO INTERVENIDAD GIRÓN Y PIEDECUESTA

#### 4.1.1 Análisis Físico y químico

Se mostró que las muestras de suelo colectadas en áreas no intervenidas de Girón, que la reacción del suelo es medianamente Acida con un pH cercano a 6.0, el contenido de materia Orgánica (MO) es Bajo al igual que el contenido de N Total, el contenido de P, Mn, Br, Cu es bajo, el nivel de Ca, K, Zn es medio, el nivel de Hierro es muy alto, la textura es adecuada, el nivel de Sodio es normal; en el caso de la muestra control Piedecuesta muestra un suelo de pH neutro, mayor contenido de materia orgánica pero bajo contenido de P en comparación con la muestra de Girón, también presenta un contenido de N medio, y Ca, S, Mn mayor, mostrando una similitud en textura, esto resultados son de acuerdo a los estándares del laboratorio de Suelos de la Universidad Industrial de Santander (Tabla 4).

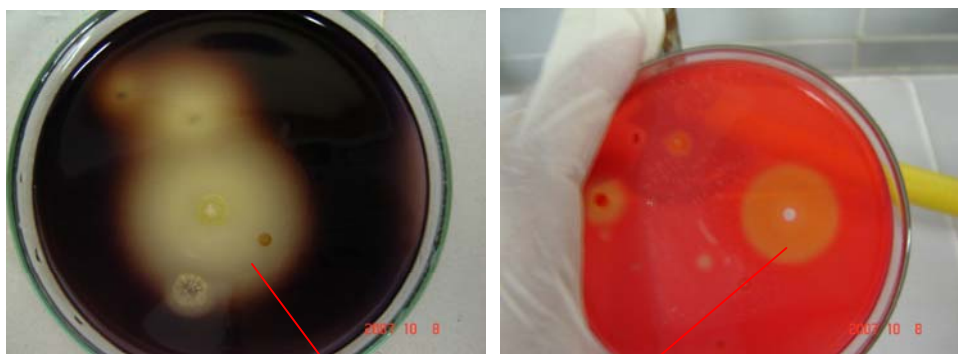
**Tabla 4. Promedio Análisis Físico y químico de muestras de suelo no intervenido Girón y Piedecuesta.** (N.D.= No detectable a la mínima concentración detectada para el método)

ANALISIS	GIRÓN	PIEDECUESTA
pH	6,0	7,0
Carbono Organico %	1,23	2,17
P (ppm) Bray II	17,7	6,93
N	0,106	0,1871
Ca (meq/100g suelo)	4,23	11,3
Mg (meq/100g suelo)	1,33	3,45
Na (meq/100g suelo)	0,13	0,02
K (meq/100g suelo)	0,28	0,36
Al (meq/100g suelo)	N.D.	N.D.
Arena %	72	72
Limo %	16	18
Arcilla %	12	10

Textura	Franco-Arenoso	Franco-Arenoso
<b>S (ppm)</b>	2,29	4,58
<b>B (ppm)</b>	0,26	0,14
<b>Fe (ppm)</b>	88,4	9,2
<b>Mn (ppm)</b>	1,12	14,3
<b>Cu (ppm)</b>	0,68	0,60
<b>Zn (ppm)</b>	3,24	N.D.

#### 4.1.2 Análisis Microbiológicos

Las colonias consideradas positivas para actividad de solubilización de P, CEL, AM y PROT fueron aquéllas que presentaron un halo de degradación (figura 3). En el caso de las bacterias libres fijadoras de nitrógeno NFB y BK (figura 4 y 5) se consideraron positivas todas las colonias que crecieron en el medio de cultivo al igual que los demás grupos (Brigatto U. and Andrade G. 2003; Andrade G. 2004; Torres M. y Lizarazo L.M. 2006) Tabla 9.



Halo de degradación

**Figura 3: Halo de degradación izq.: Bacterias Amilolíticas (AM), der. Bacterias Celulolíticas (fotografía tomada por el autor 2007)**

En la tabla 5 se observan los valores de la UFC en las muestras de suelo no intervenido o control en los municipios de Girón y Piedecuesta mostrando que los grupos funcionales de microorganismos del ciclo del carbono para Girón se presentaron:  $2,1 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> AM,  $3,7 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> CEL y  $4,1 \cdot 10^4$  UFC/g<sub>ps</sub> PROT; para Piedecuesta se presentaron:  $5,3 \cdot 10^5$

$4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$  AM,  $5,5 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$  CEL, y PROT  $1,5 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$ , mostrando valores muy inferiores con respecto a Girón (CG) a excepción de los PROT. En los grupos funcionales de RB, AC, BK, PK y NFB de la muestra de Girón (CG) también tienen UFC superiores a las registradas en Piedecuesta a excepción de TSA y KB ( $6,1 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$  y  $1,4 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$  respectivamente) presentan valores inferiores que los de Piedecuesta.

**Tabla 5. Promedio de UFC de grupos funcionales de microorganismos en muestras de suelo no intervenido Palogordo-Girón y Umpalá-Piedecuesta.**

Grupos Funcionales	Girón (CG)	Piedecuesta (CP)
RB	$7,4 \cdot 10^3\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$1,1 \cdot 10^3\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
AM	$2,1 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$5,3 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
CEL	$3,7 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$5,5 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
PROT	$4,1 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$1,5 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
AC	$9,6 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$1,0 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
BK	$7,8 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$7,7 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
PK	$2,9 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$4,9 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
TSA	$6,1 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$8,6 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
KB	$1,4 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$3,1 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$
NFB	$4,1 \cdot 10^5\text{UFC/g}_{\text{ps}}$	$1,4 \cdot 10^4\text{UFC/g}_{\text{ps}}$

## 4.2 ZONAS CULTIVADAS GIRÓN Y PIEDECUESTA

### 4.2.1 Análisis Físico y químico

Las muestras de suelo tomadas de cultivos de tabaco enfermo y sano en cada zona de cada localidad, se evaluaron los mismos parámetros físicos y químicos (Tabla 6 y 7) que las muestras control.

**Tabla 6. Características Fisicoquímicas de suelo en cultivos de tabaco sano y enfermo en el municipio de Girón. (N.D= No detectable a la mínima concentración detectada para el método) resultados según Laboratorio Químico de Suelos-Universidad Industrial de Santander.**

P. FISICO-QUIMICO	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	M-6
	GIRON					
	ZONA 1		ZONA 2		ZONA 3	
	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo
pH	6	5,2	7,0	6,0	6,5	6,6
Carbono Organico %	0,48	1,11	1,13	0,54	0,95	1,5
P (ppm) Bray II	58,2	643	61,6	107	122	109
N	0,0414	0,0961	0,0971	0,0471	0,0822	0,1302
Ca (meq/100g suelo)	3,23	4,73	8,95	3,68	4,35	5,73
Mg (meq/100g suelo)	1,04	0,79	3,2	2,2	0,83	1,37
Na (meq/100g suelo)	0,11	0,11	0,11	0,11	0,09	0,07
K (meq/100g suelo)	0,52	0,4	0,58	0,49	0,2	0,27
Al (meq/100g suelo)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Arena %	84	78	70	80	78	72
Limo %	10	18	18	10	12	18
Arcilla %	6	4	12	10	10	10
Textura	Arenoso-Franco	Arenoso-Franco	Franco-Arenoso	Arenoso-Franco	Franco-Arenoso	Arenoso-Franco
S (ppm)	---	---	---	---	---	---
B (ppm)	0,51	0,26	0,9	0,42	0,37	0,31
Fe (ppm)	22,8	27,2	13,6	16	35,6	34,8
Mn (ppm)	0,88	5,84	2,16	1,72	0,44	0,8
Cu (ppm)	0,44	2	0,44	0,48	0,48	0,48
Zn (ppm)	1,76	8,6	1,52	1,36	2,52	3,4

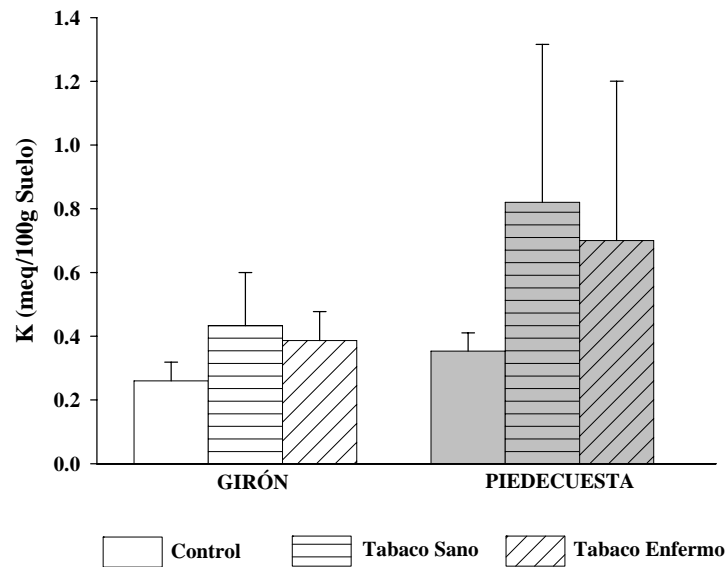
**Tabla 7. Características Físico-químicas de suelo en cultivos de tabaco sano y enfermo en el municipio de Piedecuesta. (N.D= No detectable a la mínima concentración detectada para el método), resultados según Laboratorio Químico de Suelos-Universidad Industrial de Santander.**

P. FISICO-QUIMICO	M-7	M-8	M-9	M-10	M-11	M-12
	PIEDECUESTA					
	ZONA 1		ZONA 2		ZONA 3	
	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo
pH	4,9	6,1	5,8	6,2	7,3	7,2
Carbono Organico %	1,21	0,64	2,77	1,46	0,47	1,42
P (ppm) Bray II	79,9	113	270	37,5	152	347
%N	0,1043	0,0552	0,2388	0,1259	0,0405	0,1224
Ca (meq/100g suelo)	3,85	3,38	11,4	8,33	14,3	14,5
Mg (meq/100g suelo)	1,25	0,62	2,12	1,87	0,96	2,58
Na (meq/100g suelo)	0,20	0,15	0,15	0,15	0,17	0,15
K (meq/100g suelo)	0,50	0,26	1,52	0,44	0,44	1,40
Al (meq/100g suelo)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Arena %	68	80	76	72	66	64
Limo %	16	10	16	20	24	26
Arcilla %	16	10	8	8	10	10
Textura	Franco-Arenoso	Arenoso-Franco	Franco-Arenoso	Franco-Arenoso	Franco-Arenoso	Franco-Arenoso
S (ppm)	33,3	3,21	51,3	6,23	58,7	68,9
B (ppm)	0,26	0,22	1,53	0,3	1,04	2,47
Fe (ppm)	73,2	46,4	22,8	7,6	7,20	1,16
Mn (ppm)	8,16	1,64	52,4	11,7	2,20	4,32
Cu (ppm)	0,88	1,04	1,00	0,48	0,40	0,48
Zn (ppm)	3,00	4,16	4,08	0,20	1,12	2,40

Se observó que el pH de las muestras (2, 7, y 9) son fuertemente ácidas (tablas 6 y 7), cuando los valores de pH están por debajo de 5 y 5.5, el aluminio, hierro y manganeso son solubles en cantidades suficientes como para ser tóxicos para algunas plantas, lo que hace que algunos iones sean sensibles a los cambios de pH por ejemplo el fosfato es muy sensible a los cambios de pH, a pH 6.5 a 7.0 es fácilmente asimilable por las plantas (Hernández R. 2005), Los valores de pH en las demás muestras de suelos muestreados, oscilan en un rango de 6.0 a 7.3; (tablas 6 y 7) pero es importante resaltar que estos valores de pH tiende a la neutralidad, siendo éste un pH óptimo para el crecimiento bacteriano (Torres y Lizarazo 2006).

En todas las muestras se observaron altos contenidos de P esto puede ser debido a la aplicación de altas cantidades de fertilizantes fosfóricos en suelos agrícolas con el fin de aumentar el nivel de P aprovechable (Nogueira et al., 2006), debido a que la mayoría de los suelos de Colombia son muy deficientes en P aprovechable para las plantas (compendio No. 23 ICA), el contenido de K es alto para las muestras 1,3,5,7,9,11 las cuales pertenecen a cultivos sanos, la adición de P y K en dosis crecientes traen consigo una mayor capacidad de los microorganismos en llevar a cabo los procesos de mineralización de los restos orgánicos y esta se revierte en un mayor rendimiento de los cultivos, las cantidades de N, P y K que de no ser en forma adecuada, pueden deteriorar el recurso natural del suelo, lo que trae como consecuencia la generación de procesos degradativos del medio físico, económico y social de las poblaciones involucradas y su entorno y esto se vería reflejado en la producción del cultivo (Font L., Calero B y Del Castillo A. 2002).

Resulta interesante que los valores más favorables en estos indicadores coinciden con las zonas de tabaco sano, esto podría indicarnos que el alto contenido de K favorece la producción de tabaco, mientras que en las demás muestras que son las enfermas el contenido de K es medio-bajo (figura 4). Las muestras que presentan bajos niveles de nutrientes podrían verse afectadas por la baja disponibilidad de estos para suplir las necesidades fisiológicas de las bacterias y la buena producción del cultivo, es importante recalcar que en este estudio el contenido de K fue una variante notoria entre sanas y enfermas a diferencia del P, pH y el N. El %N para todas la muestras fue bajo, no fue una variante entre tabaco sano y enfermo.



**Figura 4: Contenido de K en cultivos sanos y enfermos en Girón y Piedecuesta.**

El suelo presentó en su mayoría una textura franco-arenosa con altos porcentajes de arena, estas características pueden aumentar la porosidad del suelo permitiendo la libre circulación del aire y nutrientes para las plantas, pero también puede ser una desventaja para estos cultivos, ya que los suelos con esta textura tienen una baja capacidad de retención de agua el cual es un medio de transporte de los minerales (compendio No. 23 ICA).

#### 4.2.2 Análisis Microbiológicos

##### 4.2.2.1 Microorganismos del Ciclo del Carbono (Celulolíticos, Amilolíticos y Proteolíticos)

En la rizósfera de cultivos de tabaco los grupos funcionales de microorganismos del ciclo del carbono (figura 3) se presentaron en un rango de  $4,6 \cdot 10^5 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  a  $8,9 \cdot 10^5 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  en muestras de suelo con tabaco sano y de  $4,7 \cdot 10^4 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  a  $9,8 \cdot 10^5 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  en muestras de suelo con tabaco enfermo para AM,  $5,5 \cdot 10^5 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  a  $9,7 \cdot 10^5 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  en tabaco sano y

1,5\*10<sup>6</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 9,5\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> en tabaco enfermo para CEL y un rango de 1,1\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 7,8\*10<sup>4</sup>UFC/g<sub>ps</sub> en tabaco sano y de 2,5\*10<sup>4</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 8,5\*10<sup>4</sup>UFC/g<sub>ps</sub> en tabaco enfermo para PROT en el municipio de Girón (tabla 8); para Piedecuesta (tabla 9) se presentaron en un rango de 3,0\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 5,3\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> para tabaco sano y de 3,5\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 4,1\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> en tabaco enfermo para AM, 1,8\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 3,8\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> en tabaco sano y 2,1\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 8,1\*10<sup>4</sup>UFC/g<sub>ps</sub> en tabaco enfermo para CEL, y un rango de 2,0\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 4,6\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> en tabaco sano y 2,2\*10<sup>4</sup>UFC/g<sub>ps</sub> a 4,5\*10<sup>5</sup>UFC/g<sub>ps</sub> en tabaco enfermo para PROT, a diferencia de lo reportado por Torres y Lizarazo (2006) recuentos en muestras de suelo rizosférico en cultivo de cebolla junca, los grupos funcionales del ciclo del C, la población de amilolíticos (AM) varió entre 20,5 y 83,5 · 10<sup>3</sup> UFC· g<sup>-1</sup> de suelo, los proteolíticos (PROT) entre 4,5 y 15,5· 10<sup>3</sup> UFC· g<sup>-1</sup> de suelo y los celulolíticos (CEL) entre 11,5 y 46·10<sup>3</sup> UFC· g<sup>-1</sup> de suelo mostrándose unos valores inferiores a los encontrados en los cultivos de tabaco, notándose la variabilidad de UFC en los diferentes cultivos agrícolas.

**Tabla 8. UFC /gps de grupos funcionales de microorganismos en cultivos de tabaco sano y enfermo en el municipio de Girón.**

<b>GIRON</b>							
	ZONA 1			ZONA 2		ZONA 3	
	Control-Giron	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo
<b>RB</b>	8,909235279	10,79957558	9,472704636	9,392661929	10,51867319	8,101677747	8,455317788
<b>AM</b>	12,25486281	13,18063229	10,75790288	14,69897674	13,79530785	13,03898177	13,67624849
<b>CEL</b>	12,82125828	13,21767356	13,76421726	13,78505135	14,22097567	11,03488966	12,15477935
<b>PROT</b>	10,62132735	11,60823564	10,16585182	11,26446411	13,08154138	10,59663473	11,35040654
<b>AC</b>	13,77468856	13,68767719	12,79385931	13,99783211	14,84512998	12,89921983	15,34156686
<b>BK</b>	13,5670492	12,87390202	11,2515607	13,91082074	13,30468493	12,10071213	12,3883942
<b>PK</b>	12,5776362	13,30468493	12,25486281	13,99783211	14,28551419	10,54534144	10,40426284
<b>TSA</b>	11,01862914	13,41503299	11,17043516	15,17648711	15,48321738	14,88022129	14,91412285
<b>KB</b>	9,546812609	13,71015004	10,20359214	14,88022129	15,77560534	9,680344001	10,23995979
<b>NFB</b>	12,92391244	13,91082074	12,30138283	13,47302025	12,5776362	10,79957558	13,47302025

**Tabla 9. UFC /gps de grupos funcionales de microorganismos en cultivos de tabaco sano y enfermo en el municipio de Piedecuesta.**

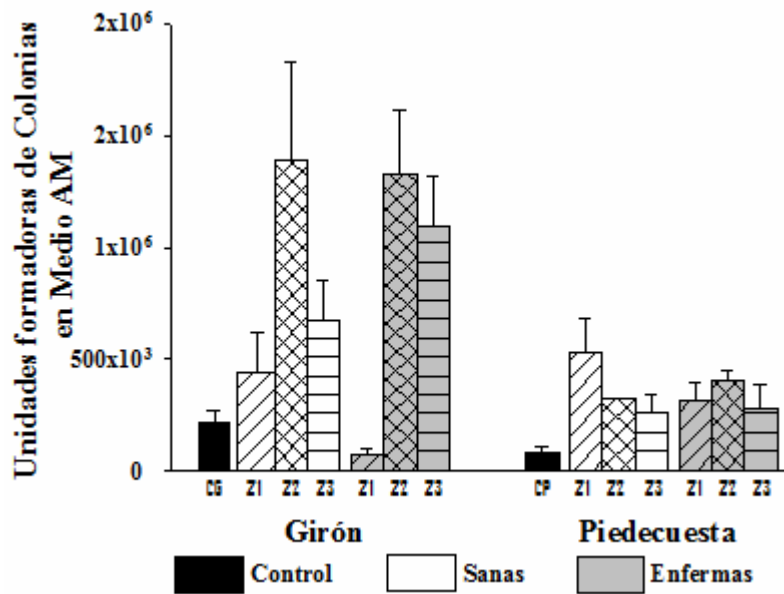
PIEDECUESTA							
	Control-Piedecuesta	ZONA 1		ZONA 2		ZONA 3	
		Tabaco Sano	Tabaco Enfermo	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo	Tabaco Sano	Tabaco Enfermo
RB	7,003065459	9,392661929	8,433811582	8,794824928	8,216088099	10,59663473	8,748304912
AM	10,87804719	13,18063229	12,92391244	12,70684793	12,76568843	12,91153775	12,82125828
CEL	10,91508846	12,84792653	12,3883942	12,10071213	11,30220443	12,67607627	12,25486281
PROT	11,91839057	9,952277717	9,998797732	12,20607265	12,46843691	13,03898177	13,01700286
AC	11,51292546	14,28551419	13,32121424	14,40329722	13,61705962	14,22097567	14,22097567
BK	11,2515607	13,41503299	12,89921983	14,07787482	12,99453001	14,50865774	14,15198279
PK	10,79957558	12,64432758	11,98292909	12,50617724	12,46843691	13,06048797	12,82125828
TSA	11,36210258	12,5776362	12,7367009	12,97154049	13,08154138	14,07787482	14,771022
KB	10,34174248	8,268731832	8,961879013	8,5754621	9,104979856	8,242756346	10,83958091
NFB	9,546812609	12,89921983	12,54254488	12,20607265	12,3883942	13,45883561	12,99453001

#### 4.2.2.1.1 Población microbiana CEL

En las tablas 8 y 9 se observa que las poblaciones microbianas de Celulolíticos fueron mayores en el municipio de Girón, se nota un aumento en los cultivos de tabaco enfermo en la zona 2, comparado con lo encontrado en Piedecuesta hay una menor población en cultivos enfermos que en sanos lo que se esperaría encontrar para todas las muestras. La población de CEL en la muestra control o suelo no intervenido de Girón es inferior que las zonas 1y2 de tabaco sano y enfermo, pero es mayor que el control Piedecuesta (CP) y este a su vez es menor que todas las zonas sanas y enfermas en este municipio, esto puede ser a que en los suelos cultivados la aplicación de fertilizantes químicos pueden aumentar la cantidad de exudados radiculares y las prácticas agronómicas inadecuadas ocasionan cambios en la estructura de la comunidad microbiana en la rizósfera del suelo (Ocampo J. et al.2001; Schloter M., et al., 2003; Vargas S. , Pastor S. and March G.J. 2007).

#### 4.2.2.1.2 Población microbiana AM

Las poblaciones de Amilolíticos (figura 5) son mayores en el municipio de Girón, en mayor número en cultivos de tabaco sano de las zonas 1 y 2 que en los enfermos, para el municipio de Piedecuesta en las zonas 2 y 3 se ve un poco aumentada la población microbiana en cultivos enfermos.



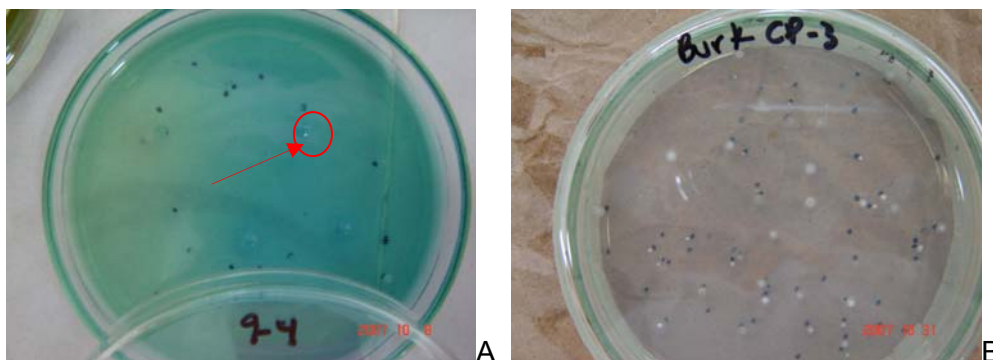
**Figura 5: Unidades formadoras de colonia de microorganismos del grupo Amilolíticos para tabaco sano y enfermo en las diferentes zonas en los municipios de Girón y Piedecuesta.**

#### 4.2.2.1.3 Población microbiana PROT

Las poblaciones de proteolíticos (tablas 8 y 9) se presentan en mayor número en cultivos enfermos en la zona 2 tanto en Girón como en Piedecuesta comparado con los cultivos sanos para estas mismas zonas, sin embargo la población microbiana es menor en cultivos sanos el municipio de Girón en las zonas 2 y 3 comparado con Piedecuesta. La población PROT en la muestra CG es inferior a las 3 zonas de tabaco sano y a las zonas 2 y 3 del tabaco enfermos, a diferencia de los anteriores grupos, la población microbiana de PROT en la muestra de suelo no intervenido CP es mayor que la CG, y también superior que la zona 1 de cultivos sanos y enfermos.

#### 4.2.2.2 Microorganismos del Ciclo del Nitrógeno (Bacterias fijadoras de Nitrógeno que utilizan malato como fuente de carbono-NFB y glucosa como fuente de carbono-BK)

En las muestras de suelo rizosférico las poblaciones microbianas de NFB (tabla 8) variaron entre  $1,1 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $7,1 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $2,2 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $7,1 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos y para BK las poblaciones variaron entre  $1,1 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $3,9 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $2,4 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $7,7 \cdot 10^4$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos para el municipio de Girón, en el municipio de Piedecuesta (tabla 9) se observaron poblaciones de NFB que variaron entre  $2,0 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $7,0 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $2,4 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $4,4 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos y para BK variaron de  $1,3 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> hasta  $6,7 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $1,4 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $4,4 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos.

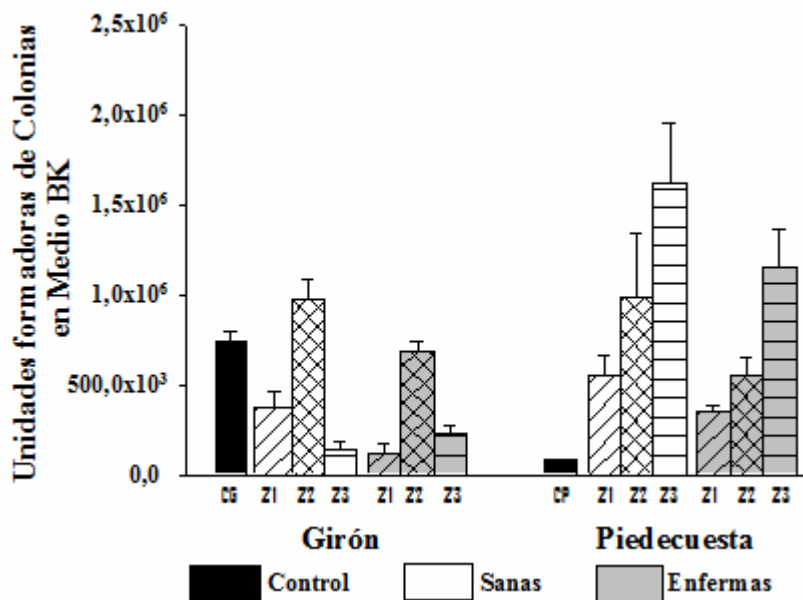


**Figura 6: A. Colonia (flechas) de microorganismos del grupo NFB-bacterias fijadoras de nitrógeno que utiliza malato como fuente de carbono; B. Colonia de microorganismos del grupo BK-b. Fijadoras de nitrógeno que utilizan glucosa como fc.**

#### 4.2.2.2.1 Población microbiana BK

La población BK (figura 6B) es mayor en cultivos sanos en las zonas 1 y 2 tanto en Girón como Piedecuesta, sin embargo en la zona 3 de Girón se ve aumentada. Observando la gráfica se muestra una deficiencia de bacterias fijadoras de nitrógeno que utilizan glucosa como fuente de carbono en los cultivos con plantas de tabaco enfermo, esto podría ser una de las causas del estado del cultivo, al haber menor población de fijadoras de nitrógeno podría verse afectado la asimilación del nitrógeno e inclusión de este para las plantas (figura 7), la utilización de fijadores de N biológico (NFB) es una tecnología puede

disminuir la aplicación de Fertilizantes nitrogenados químicos y de esta forma reduciendo el riesgo medioambiental(Andrade G. 2004). las muestra de suelo no intervenido de Girón (CG) la población de BK es mayor que las zonas 1 y 3 tabaco sano y enfermo, a la vez es mayor que el CP (control Piedecuesta) y este es notoriamente inferior a todas las zonas tanto en cultivos sanos como enfermos. Según Pardo L. et al. (2006) las bacterias nitrificantes presentan valores similares entre suelos cultivados (cafetal), bosque y pastura las UFC van desde  $2.5 \times 10^1$  NPM/g en cafetal a  $4.5 \times 10^1$  NPM/g en pastura y bosque, mostrando valores muy bajos de esta población (BK) con respecto a lo obtenido en éste trabajo, esto puede ser debido a las técnicas agrícolas utilizadas en el cafetal y que este es otro tipo de planta.

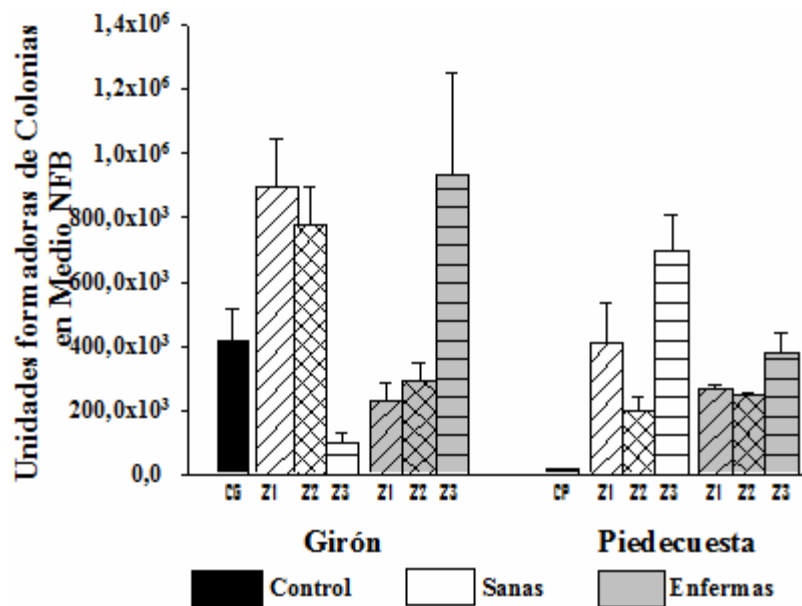


**Figura 7: Unidades formadoras de colonia de microorganismos del grupo bacterias fijadoras de nitrógeno que utilizan glucosa como fuente de carbono (BK) para tabaco sano y enfermo en las diferentes zonas en los municipios de Girón y Piedecuesta.**

#### 4.2.2.2.2 Población microbiana NFB

Para la población de NFB (figura 6A) en las zonas 1 y 2 es mayor en cultivos sanos en el municipio de Girón, para Piedecuesta las zonas 1 y 3 es mayor las UFC de NFB en

cultivos sanos que en los enfermos (figuras 8), este grupo funcional puede ser un indicador importante en la calidad del suelo, como se nota es mayor la población en los cultivos sanos en la mayoría de zonas. Al igual que el grupo de BK la muestra de suelo no intervenido de Girón (CG) la población de NFB es mayor que el CP (control Piedecuesta) y este es notoriamente inferior a todas las zonas tanto en cultivos sanos como enfermos. Sin embargo en la muestra de la zona 3 de cultivo enfermo es notoriamente superior que la muestra CG.



**Figura 8: Unidades formadoras de colonia de microorganismos del grupo bacterias fijadoras de nitrógeno que utilizan malato como fuente de carbono (NFB) para tabaco sano y enfermo en las diferentes zonas en los municipios de Girón y Piedecuesta.**

#### 4.2.2.3 Microorganismos del Ciclo del Fósforo (Bacterias solubilizadoras de fosfato-PK)

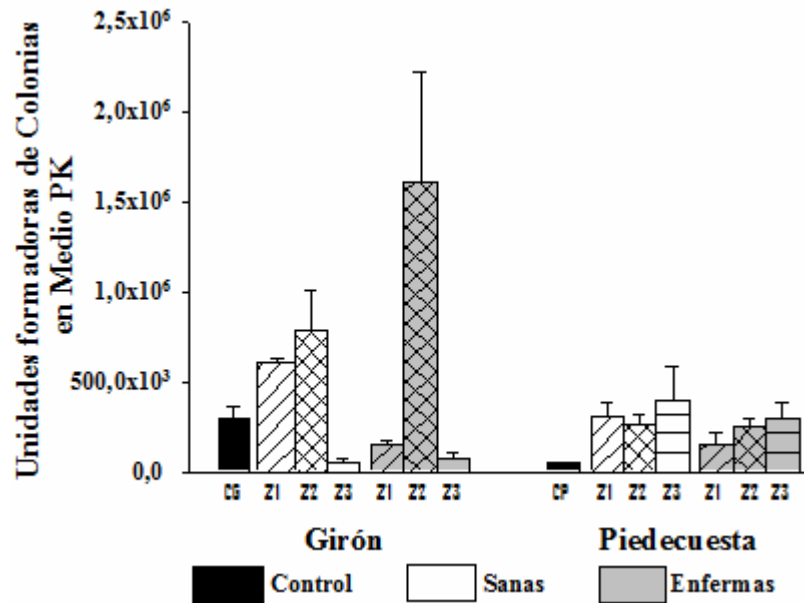
La población de bacterias solubilizadoras de fosforo (figura 9) se presentaron en un rango de  $1,2 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> hasta  $6,0 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $1,6 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $3,3 \cdot 10^4$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos en Girón, para Piedecuesta las UFC variaron entre  $2,7 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> hasta  $4,7 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $1,6 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> hasta

$3,7 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos. Los valores de UFC obtenidos en este trabajo, son superiores a los registrados por Adame (1996), citado por Linares (1999) y Torres & Lizarazo (2006), quienes indican que las bacterias solubilizadoras de fósforo (PK) existen efectivamente como parte de la microflora nativa de los suelos y sus niveles poblacionales fluctúan entre  $1,7$  y  $1,58 \cdot 10^3$  UFC· g<sup>-1</sup> de suelo y de raíz.



**Figura 9: Colonia y halos de degradación (flecha) de microorganismos solubilizadores de fosfato (PK).**

La población PK se ve mayor en cultivos sanos tanto en Girón como en Piedecuesta a excepción de la zona 2 de Girón donde se ve aumentada (figura 10), las demás zonas muestran una diferencia notoria de las PK entre cultivos sanos y enfermos, de lo cual podría inferir que esta población estaría involucrada en la calidad del suelo y sanidad del cultivo al igual que el grupo de bacterias fijadoras de nitrógeno, ya que las bacterias solubilizadoras de fosfato al igual que las fijadoras de nitrógeno son importantes en la liberación de sustancias que promueven el crecimiento radicular por ejemplo, hormonas, enzimas, antibióticos, los cuales aumentan la disponibilidad de nutrientes (ejm. Mn y Fe), y además actúan como biocontrol de patógenos de plantas manteniendo una buena producción del cultivo (Andrade G. 2004; Rao 1992, Premono et al. 1994, Toro et al. 1996, Bashan and Holguin 1998, Azcon and Barea 1996, Kopler, Lifshitz and Schroth 1988, Frankenberg and Arshad 1995 en Osorio V.N. 2007).



**Figura 10: Unidades formadoras de colonia de microorganismos del grupo de solubilizadoras de fósforo (PK) para tabaco sano y enfermo en las diferentes zonas en los municipios de Girón y Piedecuesta.**

Como soporte para estos resultados, se tuvo en cuenta los estudios realizados en diferentes suelos por Carniero *et al.* (2004) y Barroti y Nahas (2000) los cuales indicaron, que los suelos agrícolas pueden presentar valores de UFC más altos de solubilizadores de fosfato que los suelos forestales y que uno de los factores que más influye sobre este parámetro es el pH del suelo, el cual puede ser modificado por la adición de fertilizantes en los suelos agrícolas; esta aplicación constante de químicos en los suelos agrícolas no sólo produce un aumento en el pH sino también un aumento en la disponibilidad de nutrientes, lo que puede favorecer el crecimiento poblacional de las PK y otros grupos bacterianos (Torres M. y Lizarazo LM 2006), pero la adición a largo plazo y a veces el mal uso pueden alterar la dinámica microbiana en éste recurso.

#### 4.2.2.4 Microorganismos de la comunidad General del suelo (AC, TSA, RB y KB)

##### 4.2.2.4.1 Población microbiana AC

La población de AC (tablas 8 y 9) varió entre  $8,8 \times 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> hasta  $1,2 \times 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $2,8 \times 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $4,6 \times 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos en las zonas de Girón, mientras que en Piedecuesta las UFC de AC variaron entre  $1,5 \times 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $1,8 \times 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $8,2 \times 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $1,5 \times 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos mostrando una mayor población que en las muestras de enfermas en Girón.

La población AC es mayor en cultivos enfermos que en los sanos en las zonas 2 y 3 de Girón (tabla 8), comparado con Piedecuesta (tabla 9) en las zonas 1, 2 y 3 presentan menor población de AC en cultivos enfermos, mientras que en los cultivos sanos se observa una población similar en las 3 zonas y mayor que las sanas de Girón, en la zona 3 de tabaco sano de Girón hay un descenso notable de AC, este grupo de microorganismos no muestra un comportamiento similar en los cultivos sanos de los dos municipios, en uno se ve disminuido y en el otro se ve aumentado, por lo tanto no se podría utilizar con certeza para evaluar la calidad del suelo.

En las muestras control la población de AC de CP (control Piedecuesta-tabla 8) es menor que CG (control Girón) y las demás zonas. Los actinomicetos son poblaciones de microorganismos de baja tasa de crecimiento pero son importantes ya que participan en la degradación de carbohidratos como almidones, celulosa, y proteínas (Brigatto U. and Andrade G. 2003, Andrade G. 2004). El estudio realizado por Pardo et al. (2006) el recuento de actinomicetos presentan mayor valor en bosque secundario ( $1.0 \times 10^7$  UFC/g) que en zonas cultivadas (cafetal) mostrando un valor menor ( $4.9 \times 10^4$  UFC/g), en contraste con lo obtenido en este estudio la población microbiana de AC en un promedio, es menor en cultivos de tabaco que en bosque secundario pero diferente a los cafetales. Según Karthikeyan B. et al., (2008) en la rizósfera de plantas medicinales se encontraron poblaciones de actinomicetos con un valor de UFC de  $12.20 \times 10^5$  g<sup>-1</sup> en *O. sanctum*,  $10.44 \times 10^5$  g<sup>-1</sup> en *C. roseus*,  $8.44 \times 10^5$  g<sup>-1</sup> in *A. vera* y  $6.22 \times 10^5$  g<sup>-1</sup> en *C. forskholii*, estos valores al compararlos con los registrados en este trabajo son menores.

#### 4.2.2.4.2 Población microbiana TSA

La población de TSA (bacterias heterotróficas) se presentó en un rango de  $6,7 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $3,9 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $7,1 \cdot 10^4$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $5,3 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos en las zonas de Girón (tabla 8), en Piedecuesta se presentaron UFC de  $2,9 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $1,3 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $3,4 \cdot 10^5$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $2,6 \cdot 10^6$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos (tabla 9)

La población de TSA fue mayor en el municipio de Girón, sin embargo se nota un aumento en las zonas 2 y 3 en las muestras de cultivo enfermo siendo menor para estas zonas en los cultivos sanos, en Piedecuesta se observa una disminución no muy marcada en la población de TSA en las zonas 1 y 2 para cultivos enfermos pero si un aumento notorio para la zona 3 de las muestras de suelo con tabaco enfermo (tablas 8 y 9). En las muestras de suelo no intervenido CG y CP los valores de UFC son muy inferiores a las zonas tanto sanas como enfermas en los dos municipios, demostrando que pueden ser suelos muy pobres en diversidad bacteriana y tampoco se podrían utilizar como indicador de calidad, ya que este medio de cultivo se utiliza para aislar microorganismos de la comunidad general del suelo y que incluyen una gran variedad de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas (Brigatto U. and Andrade G. 2003)

#### 4.2.2.4.3 Población microbiana RB

La población de hongos totales (filamentosos y levaduriformes) son importantes en la degradación de proteínas y carbohidratos, además facilitan la disponibilidad de nutrientes para otros grupos de microorganismos (Brigatto U. and Andrade G. 2003, Nogueira et al. 2006), sus UFC variaron de  $3,3 \cdot 10^3$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $4,9 \cdot 10^4$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos y de  $4,7 \cdot 10^3$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $3,7 \cdot 10^4$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos en las zonas de Girón, comparado con las zonas de Piedecuesta se presentaron de  $6,6 \cdot 10^3$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $4,0 \cdot 10^4$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos sanos de tabaco y de  $3,7 \cdot 10^3$  UFC/g<sub>ps</sub> a  $6,3 \cdot 10^3$  UFC/g<sub>ps</sub> en cultivos enfermos, indicando un menor número que la población de hongos encontradas en las enfermas de Girón.

Se observa en las tablas 8 y 9 que la población de hongos es mayor las UFC en el municipio de Girón que Piedecuesta en las zonas 1,2 y en la CG, en la zona 3 de cultivos

sanos de Girón se nota una disminución marcada, mientras que en la zona 1 muestra un elevado número de UFC de hongos, en cambio la zona 2 es lo opuesto hay mayor UFC de hongos en cultivos enfermos y es una diferencia grande mientras que en la zona 3 es mayor también para cultivos enfermos, esto podría asociarse a la posibilidad de la presencia de hongos patógenos no benéficos dentro de esta población de hongos totales lo que estaría afectando los cultivos, de acuerdo a las observaciones macroscópicas presentaban mas morfotipos de hongos en las muestras de Girón que las de Piedecuesta.

En Piedecuesta las zonas presentan una menor población de hongos (RB) en las 3 zonas de los cultivos enfermos en comparación con lo encontrado en los cultivos sanos, en este caso los hongos encontrados podrían ser benéficos para los cultivos. Según Karthikeyan B. et al., (2008) las poblaciones de hongos encontradas en la rizósfera de plantas medicinales importantes fueron de  $19.44 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  in *C. roseus*,  $18.66 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  en *O. sanctum*,  $16.74 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  en *A. vera* y  $14.24 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  in *C. forskholii*. Estos valores de UFC son mayores a los encontrados en el presente trabajo.

#### **4.2.2.4.4 Población microbiana KB**

Cuando la estimulación del crecimiento vegetal se produce en ausencia de otros microorganismos, ésta se ha atribuido al incremento de la disponibilidad de nutrientes minerales, como el fosfato o el nitrógeno, debido a la producción de fitohormonas estimuladoras del crecimiento vegetal o a la degradación de precursores del etileno en la raíz por parte de estas bacterias (Glick. 1995 en Cazorla F. 2005).

La población de *Pseudomonas fluorescens* (KB) (tabla 8) se presentó en un rango de  $1,6 \times 10^4 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  a  $2,9 \times 10^6 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  en cultivos sanos y de  $2,7 \times 10^4 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  a  $7,1 \times 10^6 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  en cultivos enfermos en las zonas de Girón, en las zonas de Piedecuesta (tabla 9) se presentaron de  $3,8 \times 10^3 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  a  $5,3 \times 10^3 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  en cultivos sanos y de  $7,8 \times 10^3 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  a  $5,1 \times 10^4 \text{ UFC/g}_{\text{ps}}$  en cultivos enfermos notándose una mayor población que lo encontrado en los cultivos sanos. En el trabajo realizado por Terry et al. (2005) en cultivo de tomate, registro un valor de UFC para el grupo de *Pseudomonas* de  $5.7 \times 10^6$  mostrándose una alta población de éste grupo junto con *Azospirillum* y *Azotobacter*, este

valor al compararlo con lo obtenido es superior a lo encontrado en el suelo de cultivos tabaco sanos e incluso mayor que en los cultivos enfermos, hay una gran diferencia en los dos tipos de cultivo.

La población de KB se ve notoriamente aumentada en la zona 2 de cultivo enfermo en Girón a comparación con las zonas 1 y 2 de cultivos sanos en este municipio, también se nota que hay notoria diferencia de UFC en las zonas 1 de Girón en cultivos sanos y enfermos. En Piedecuesta la población de KB es menor en los cultivos sanos que en los enfermos en las 3 zonas, en cambio en el CP es superior a estas, pero menor a la de CG, sin embargo en este grupo si se observa un valor de UFC similares en las dos muestras de suelo no intervenido (CG-CP) a diferencia de los demás grupos funcionales donde hay valores muy mínimos en CP. Se nota la diferencia en los dos municipios, en Girón las UFC de las KB es mayor en los cultivos sanos que enfermos en contraste a Piedecuesta donde ocurre lo contrario.

### **4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

#### **4.3.1 Analisis De Correlación De Pearson En Cultivos De Tabaco Sano En El Municipio De Girón**

El análisis de correlación de Pearson se realizó con el fin de establecer relaciones internas entre las variables biológicas (UFC para cada grupo funcional de microorganismos) y variables físicas y químicas obtenidas en las muestras de suelo de los cultivos de tabaco sano y enfermo en los municipios de Girón y Piedecuesta.

En la tabla 10 se observa los valores de  $r^2$  (-0.996→AC, -0.998→CEL y -0.993→PK) en cultivos de tabaco sano de Girón, indicando que las poblaciones bacterianas de AC, CEL y PK se ven correlacionadas negativamente con el contenido de hierro en el suelo. En el trabajo realizado por Sivila R. y Dominic H. (1994) resultó interesante la relación entre los diferentes grupos de microorganismos con los parámetros físicos y químicos del suelo mediante un análisis en componentes principales, de la matriz de correlación, destacaron

las correlaciones negativas entre el porcentaje de arena y la materia orgánica (-0,7 entre los actinomicetos, las micorrizas VA y la arena (respectivamente -0,7 y -0,6), y entre las micorrizas VA y el contenido de fósforo (-0,78). Las correlaciones positivas, menos nítidas, se presentaron entre micorrizas VA y edad de descanso (0,44) y entre microorganismos y materia orgánica (actinomicetos 0,66, hongos 0,55 y micorrizas VA 0,46 en suelos de 1 y 30 años de descanso. El sistema de rotación adoptado comprende 3 años: papa (*Solanum tuberosum*) el primer año, luego quinua (*Chenopodium quinoa*) o cebada (*Hordeum vulgare*) y, por último cebada o quinua. La vegetación nativa consiste principalmente en thola (*Baccharis incaruni*) e ichu (*Stipa icchu*).

**Tabla 10. Matriz de correlaciones de Pearson indicando el valor  $r^2$  significativo para las variables físicas y químicas con las U.F.C., para las plantas de Tabaco sanas en el municipio de Girón**

	AC	AM	BK	CEL	KB	NFB	PK	PROT	RB	TSA
pH										
Carbono Organico %										
P (ppm) Bray II										
Ca (meq/100g suelo)										
Mg (meq/100g suelo)		0,997*								
Na (meq/100g suelo)										
K (meq/100g suelo)										
Arena %										
Limo %										
Arcilla %										0,999*
B (ppm)					0,998*					
Fe (ppm)	-0,996**			-0,998*			-0,993*			
Mn (ppm)			0,995*		0,998*					
Cu (ppm)										
N %										
Zn (ppm)										0,99*

\* P valor < 0,05

\*\* P valor < 0,01

Para la población de los microorganismos Amilolíticos (AM) el valor de  $r^2$  (0.997) nos indica que hay una correlación positiva con respecto al contenido de Mg en los cultivos de

tabaco sano en Girón (Tabla 10), donde el tamaño poblacional de este grupo podría ser influenciado por la presencia de éste micronutriente. El Mg es uno de los elementos importantes para el crecimiento de las plantas al igual que el P, N, Ca y Fe, adicional a lo anterior, se observó que la presencia bacteriana aumenta la cantidad de N, P y Mg, así como de azúcares en los tallos de las plantas (Hernández L. y Escalona M. 2003).

La población de BK (tabla 10) se ve correlacionada de forma positiva con respecto al contenido de Mn, el valor de  $r^2$  (0.995), según Hernández L. y Escalona M 2003 y Osorio N. 2007 el Mn es un elemento esencial para la nutrición de las plantas y biocontrol de patógenos. Investigaciones recientes han mostrado que las plantas para crecer también necesitan cantidades pequeñas de elementos como B, Cu, Mn y Zn, al igual que el Fe, la disponibilidad del Mn se ve influenciada por reacciones bioquímicas (redox) de algunas bacterias rizosféricas y pH del suelo (Bohn, McNeal and O'Connor 1985 en Osorio V. N 2007), cuando los valores de pH están por debajo de 5 a 5,5, el Mn junto con el Al y el Fe son solubles en cantidades suficientes como para ser tóxicos para algunas plantas (Hernández R. 2005).

#### **4.3.2 Analisis De Correlación De Pearson En Cultivos De Tabaco Enfermo En El Municipio De Girón**

En la tabla 11 los valores del  $r^2$  en las muestras de los cultivos enfermos para Girón, muestra que la población de AC está correlacionada positivamente ( $r^2=0.9977$ ) con el valor del pH, indicando que cualquier variación en este valor puede modificar las condiciones para esta población, según Sivila R y Dominic H. (1994), los Actinomicetos (AC) están correlacionados positivamente con la relación C/N y materia orgánica (MO) ( $r^2=0.331$  y  $0.658$  respectivamente) pero negativamente con el contenido de P ( $r^2=-0.199$ ).

**Tabla 11. Matriz de correlaciones de Pearson indicando el valor  $r^2$  significativo para las variables físicas y químicas con las U.F.C., para las plantas de Tabaco enfermas en el municipio de Girón**

	AC	AM	BK	CEL	KB	NFB	PK	PROT	RB	TSA
pH	0,9977**									
Carbono Organico %										
P (ppm) Bray II		-								
Ca (meq/100g suelo)		0,994*		-0,994*						
Mg (meq/100g suelo)			0,993*							
Na (meq/100g suelo)						-				
K (meq/100g suelo)				0,999**		0,991*				
Arena %										
Limo %					-		-	-		
Arcilla %		0,994*			0,9998**		0,994*	0,992*		
B (ppm)			0,9981**							
Fe (ppm)										
Mn (ppm)										
Cu (ppm)		-								
N %		0,994*								
Zn (ppm)						0,99**				

\* P valor < 0,05

\*\* P valor < 0,01

La población de AM (tabla 11) se ve correlacionada negativamente con el contenido de P y Cu ( $r^2=-0.994$ ), pero de forma positiva con el porcentaje de arcilla ( $r^2=0.994$ ), estos parámetros físicos y químicos de acuerdo con su valor registrado pueden influenciar fuertemente el tamaño de esta población, la disponibilidad del P es controlada por la mineralización e inmovilización de la fracción orgánica y la solubilización y la precipitación de fosfatos en forma inorgánica (Silva, 1999 en Torres M. y Lizarazo LM 2006).

La población de BK se ve correlacionada positivamente con el contenido de Mg y de B ( $r^2=0.993$  y  $0.9981$  respectivamente) en el suelo convirtiéndolos como factores importantes para ésta, a diferencia de las NFB las cuales muestran correlación negativa

con el contenido de Na ( $r^2=-0.991$ ) el cual se registraba dentro de los valores normales en el suelo de acuerdo al resultado del laboratorio de suelo, la cantidad de éste influencia las condiciones para el crecimiento de este grupo que pueden favorecerlo o inhibirlo.

### 4.3.3 Analisis De Correlación De Pearson En Cultivos De Tabaco Sano En El Municipio De Piedecuesta

La tabla 12 nos muestra los valores de correlación entre las variables físicas y químicas con las UFC en los cultivos de tabaco sano en Piedecuesta, donde las poblaciones de AC se ven correlacionadas positivamente con el porcentaje de carbono orgánico y el contenido de Mg ( $r^2=0.999$  y  $0.995$  respectivamente), lo cual nos podría indicar que esta población se ven influenciadas por la presencia de éstos elementos, de acuerdo a lo reportado por Sivila R. y Dominic H (1994) los Actinomicetos están correlacionados positivamente con la materia orgánica (MO) ( $r^2=0.658$ ) en suelos de 1 a 30 años de descanso pero ahora con tres años de cultivo, pero se nota un valor más bajo de correlación con respecto a lo obtenido en este trabajo.

**Tabla 12. Matriz de correlaciones de Pearson indicando el valor  $r^2$  significativo para las variables físicas y químicas con las U.F.C., para las plantas de Tabaco sanas en el municipio de Piedecuesta**

	AC	AM	BK	CEL	KB	NFB	PK	PROT	RB	TSA
pH			0,993*					0,999*		
Carbono Organico %	0,999**									
P (ppm) Bray II				-0,996*						
Ca (meq/100g suelo)										
Mg (meq/100g suelo)	0,995*									
Na (meq/100g suelo)										
K (meq/100g suelo)					0,999**					
Arena %										
Limo %										0,991*
Arcilla %										
B (ppm)										
Fe (ppm)		0,998*								
Mn (ppm)					0,998*					
Cu (ppm)							-0,997**		-0,999*	
N %		-0,97*								
Zn (ppm)						-0,999*				

\* P valor < 0,05

\*\* P valor < 0,01

La población de AM se ve correlacionada negativamente con %N ( $r^2=-0,97$ ) y positivamente con el contenido de Fe ( $r^2=0.998$ ). Las bacterias fijadoras de nitrógeno BK y las PROT se observan que están correlacionadas positivamente solo con el pH del suelo ( $r^2=0.993$  y  $0.999$  respectivamente), mientras que las CEL presentan correlación negativa con el contenido de P ( $r^2=-0.996$ ), las Pseudomonas KB están correlacionadas positivamente con el K y el Mn ( $r^2=0.999$  y  $0.998$  respectivamente) los cuales son elementos importantes en las reacciones bioquímicas y que promueven el crecimiento vegetal. Las bacterias solubilizadoras de fosfato PK y RB (hongos totales) en este caso se ven correlacionados negativamente con el contenido Cu ( $r^2=-0.997$  y  $-0.999$ ).

#### **4.3.4 Analisis De Correlación De Pearson En Cultivos De Tabaco Enfermo En El Municipio De Piedecuesta**

En la tabla 13 se observa los valores de r que indican la correlación entre las variables físico-químicas y las UFC de las muestras de los cultivos enfermos en Piedecuesta.

En este caso los actinomicetos (AC) se ven correlacionado positivamente solo con el factor pH ( $r^2=0.9977$ ), mientras que en los cultivos sanos los AC estaban relacionados solo con el contenido de Mg indicándonos las diferencias en estas muestras, vale recordar que el pH en estas muestras oscilo entre 6.2 y 7.3 los cuales están en un rango óptimo de crecimiento vegetal.

Las bacterias Amilolíticas (AM) se ven relacionadas negativamente con el contenido de P y Cu ( $r^2=-0.994$ ) a diferencia de las AM en cultivos sanos que estaban relacionadas con el Fe y %N. La población de BK se ven relacionadas positivamente con el Mg y B ( $r^2=0.993$  y  $0.9981$  respectivamente) determinando su influencia en la población bacteriana, a diferencia de lo observado en los cultivos sanos que solo se notaba relacionada con el factor pH. Las CEL se ven relacionadas negativamente con el Ca ( $r^2=-0.994$ ) y positivamente con K ( $r^2=0.999$ ), las KB se ven correlacionadas negativamente con %limo ( $r^2=-0.9998$ ) indicando la importancia de la textura del suelo, Sivila y Dominic (1994) proponen que en general muchas de las propiedades químicas y biológicas del suelo están influenciadas por las propiedades físicas del mismo tomándose como un indicador de la granulometría del suelo, ellos escogieron el porcentaje de arena porque varía más y discrimina mejor los tipos de suelo muestreados, encontraron que en las muestras que

varias muestras presentaban menor cantidad de hongos, actinomicetos y esporas de MVA cuando la tasa de arena aumenta, también observaron el contenido de materia orgánica disminuía cuando aumentaba el porcentaje de arena.

**Tabla 13. Matriz de correlaciones de Pearson indicando el valor  $r^2$  significativo para las variables físicas y químicas con las U.F.C., para las plantas de Tabaco enfermas en el municipio de Piedecuesta**

	AC	AM	BK	CEL	KB	NFB	PK	PROT	RB	TSA
<b>pH</b>	0,9977**									
<b>Carbono Organico %</b>										
<b>P (ppm) Bray II</b>		-0,994*								
<b>Ca (meq/100g suelo)</b>				-0,994*						
<b>Mg (meq/100g suelo)</b>			0,993*							
<b>Na (meq/100g suelo)</b>						-0,991*				
<b>K (meq/100g suelo)</b>				0,999**						
<b>Arena %</b>										
<b>Limo %</b>					-0,9998**		-0,994*	-0,992*		
<b>Arcilla %</b>		0,994*								
<b>B (ppm)</b>			0,9981**							
<b>Fe (ppm)</b>										
<b>Mn (ppm)</b>										
<b>Cu (ppm)</b>		-0,994*								
<b>N%</b>										
<b>Zn (ppm)</b>										

\* P valor < 0,05

\*\* P valor < 0,01

Las NFB se ven correlacionadas negativamente con el contenido de Na ( $r^2=-0.991$ ), mientras que en las muestras de cultivos sanos se relacionaban negativamente solo con el Zn que es un elemento que se necesita en cantidades pequeñas pero esenciales para las diferentes reacciones bioquímicas involucradas en la nutrición vegetal y de las poblaciones bacterianas de la rizósfera. Las PK y los proteolíticos PROT se ven correlacionados negativamente solo con %limo ( $r^2=-0.994$  y  $-0.992$ ), en este caso los RB y TSA no se ven correlacionados con ningún factor físico y químico. Según lo reportado por Sivila R. y Dominic H. (1994) La población fúngica, valorada en el suelo de las parcelas de suelos recientemente cultivados y de rotación, fluctúa entre 20 y  $70 \times 10^5$  organismos por 100g de suelo, la mayor cantidad de hongos se relaciona con valores bajos del pH del

suelo, datos bibliográficos (Alexander, 1980; Cardoso et al., 1992; Mayea et al., 1989) también indican que los hongos son predominantes en suelos ácidos donde sufren menos competencia, pues las bacterias y los actinomicetos son favorecidos por valores de pH en la región alcalina y neutra, esto puede estar relacionado con lo obtenido en la tabla 9, donde la población de AC es mayor en cultivos sanos que en los enfermos en Piedecuesta y en estos suelos presentan valores de pH ligeramente ácidos (4,9 y 5,8) lo cual estaría favoreciendo su proliferación (tabla 7).

El suelo como hábitat presenta muchas variables que pueden influenciar las poblaciones microbianas, de modo que éstas pueden presentar diferencias en sus niveles poblacionales entre un suelo y otro e incluso entre muestras de un mismo terreno. Sin embargo, estudios realizados en diferentes suelos por Carniero *et al.* (2004) y Barroti y Nahas (2000) indicaron que los suelos agrícolas pueden presentar valores de UFC más altos para solubilizadores de fosfato que los suelos forestales y que uno de los factores que más influye sobre este parámetro es el pH del suelo modificado por la adición de fertilizantes en los suelos agrícolas.

#### **4.3.5 Test De Anova (Mlg) Para Interacción Entre Cultivos De Tabaco Enfermo, Sano Y Control (Girón- Piedecuesta)**

En la tabla 14 se observa el resumen de probabilidades según test de ANOVA tipo MLG de tres factores para las unidades formadoras de colonias en los diferentes medios, los factores evaluados fueron: Localidad o municipio (A), fuente de la muestra donde hace referencia si son de cultivos sanos o enfermos (B) y zonas (C), todos estos factores evaluados para cada grupo funcional.

Los grupo funcionales de microorganismos AC, AM, CEL, KB, NFB, PK, PROT y TSA muestran un valor de  $p < 0.01^{**}$  (tabla 14) indicando sus diferencias son altamente significativas con respecto a la localidad, es decir que las UFC de estos grupos, registradas variaron notoriamente tanto en las muestras de suelo no intervenido o control (CG-CP), cultivos de tabaco sano y enfermos. A diferencia de los grupos funcionales de microorganismos BK y TSA mostraron un valor de  $p > 0.1$  siendo no significativos para el

factor localidad, indicando que las UFC obtenidas en los dos municipios no variaron marcadamente.

Todos los grupos de microorganismos a excepción de los PROT ( $p > 0.1$ ), mostraron diferencias significativas con respecto al factor fuente de la muestra, ya sea control (no intervenido), cultivos sano y enfermos, las UFC variaron en estas tres fuentes, vale la pena destacar a los grupos microbianos de PK (fig. 15), NFB (fig.14) y BK (fig. 13) los cuales muestran una marcada diferencia entre las UFC en los cultivos de tabaco sanos, enfermos y control, siendo superior en la mayoría de las zonas de tabaco sano, de acuerdo a esto, se podrían catalogar a estos grupos de microorganismos como indicadores de calidad en cultivos de tabaco, donde a menor cantidad de microorganismos baja calidad del suelo y cultivo, aclarando que esto es específico para cada tipo de cultivo como es visto en el trabajo realizado por Karthikeyan B. et al., (2008) en muestras de suelo rizosférico y no rizosférico de planta medicinales, las poblaciones de microorganismos encontradas variaron de acuerdo al tipo de planta y ubicación de la muestra, por ejemplo:  $19.44 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  in *Catharanthus roseus*,  $18.66 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  en *Ocimum sanctum*,  $16.74 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  en *Aloe vera* y  $14.24 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  in *Coleus forskholii*.

En el factor zona, todos los grupos funcionales de microorganismos a excepción de NFB y RB ( $p > 0.1$  y  $p > 0.05$  respectivamente) tuvieron diferencias significativas, mostrando que los valores de las UFC varían con las zonas hay que tener en cuenta las gráficas de barras de las figuras 9 a 19 donde se observan las variaciones en las barras de cada zona y los controles.

En la interacción entre los tres factores localidad, fuente de la muestra y zona (AxBxC) mostraron que en todos los grupos de microorganismos a excepción de AM y TSA ( $p > 0.1$  N.D.S) tienen diferencias significativas, indicando que los factores responden interactuando con los demás factores, es decir las UFC están condicionadas a la localidad, fuente de la muestra y zona en un solo contexto y un factor depende del otro. En el trabajo realizado por Torres y Lizarazo (2006) Al realizar una comparación de las poblaciones entre las muestras de rizosfera y de suelo total, se encontró que no todos los grupos funcionales (AM, PROT, CEL, FN-fijadores de nitrógeno y SP-solubilizadores de fosfato) presentaron diferencias significativas, con un valor  $t = 2,074,22$  grados de libertad y

un nivel de confianza de 95%, se encontró una diferencia significativa entre el número de UFC en rizosfera y suelo total para PR ( $t=-2,821$ ,  $P = 0,05$ ) en el suelo de cultivo de cebolla (*Allium ampeloprasum*), así como para SP ( $t = 5,519$ ,  $P = 0,05$ ) y FN ( $t = 0,298$ ,  $P = 0,05$ ) en suelo de cultivo de papa (*Solanum tuberosum*)

**Tabla 14. Resumen probabilidades según test de ANOVA tipo MLG de tres factores para las unidades formadoras de colonias en los diferentes medios.**

	AC	AM	BK	CEL	KB	NFB	PK	PROT	RB	TSA
<b>Localidad (Factor A)</b>	p <0,01 **	p <0,01 **	<b>p &gt;0,1</b> <sup>N.S.</sup>	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	<b>p &gt;0,1</b> <sup>N.S.</sup>
<b>Fuente de la muestra (Factor B)</b>	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,05 *	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	<b>p &gt;0,1</b> <sup>N.S.</sup>	p <0,01 **	p <0,01 **
<b>Zona (Factor C)</b>	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,05 *	p <0,01 **	<b>p &gt;0,1</b> <sup>N.S.</sup>	p <0,01 **	p <0,01 **	<b>p &gt;0,05</b> <sup>N.S.</sup>	p <0,01 **
<b>A x B</b>	p <0,01 **	<b>p &gt;0,1</b> <sup>N.S.</sup>	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,05 *	p <0,01 **	p <0,01 **
<b>A x C</b>	p <0,01 **	p <0,05 *	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,05 *
<b>B x C</b>	p <0,01 **	p <0,05 *	p <0,01 **	<b>p &gt;0,1</b> <sup>N.S.</sup>	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,01 **
<b>A x B x C</b>	p <0,01 **	<b>p &gt;0,1</b> <sup>N.S.</sup>	p <0,01 **	p <0,05 *	p <0,01 **	p <0,01 **	p <0,05 *	p <0,01 **	p <0,01 **	<b>p &gt;0,1</b> <sup>N.S.</sup>

\*\* Diferencias altamente significativas

\* Diferencias Significativas

<sup>N.S.</sup> No existen diferencias Significativas

## CONCLUSIONES

- La textura del suelo en las parcelas control fueron similar en las dos localidades, no obstante los contenidos de MO, N, K, Ca fueron bajos en las muestras de Girón en comparación con los hallados en Piedecuesta, aunque el contenido de P fue superior en Piedecuesta. Los grupos funcionales de microorganismos Amilolíticos, Celulolíticos, Hongos totales, Actinomicetos, Fijadores de nitrógeno y Solubilizadores de P registraron valores de UFC superiores en las muestras control de Girón (CG) con respecto a Piedecuesta (CP) demostrando así que los suelos de Girón son ricos y con mayor población microbiana.
- Las muestras de suelo de los cultivos de tabaco sano mostraron mayor contenido de K, % arcilla y Na que en los cultivos de tabaco enfermo tanto en Girón como Piedecuesta, sin embargo los contenidos de P fueron altos en todas las muestras. Los grupos funcionales de microorganismos Fijadores de nitrógeno Solubilizadores de P y Amilolíticos, registraron valores de UFC mayores en los cultivos de tabaco sano que en los enfermos en las dos localidades, de esta forma concluir que la baja calidad y producción en los cultivos de tabaco posiblemente estén relacionados con la diferencia en el tamaño poblacional de estos grupos funcionales de microorganismos.
- Según los resultados obtenidos, en estos cultivos agrícolas la diferencia en las UFC de los grupos de microorganismos entre plantas de tabaco sanas, enfermas y áreas no intervenidas, podrían variar por la disponibilidad de nutrientes determinada por la adición de fertilizantes, los cuales van a cambiar las condiciones físicas y químicas del suelo, como se notó en los análisis de correlación la mayoría de grupos funcionales de microorganismos presentaban correlación tanto positiva como negativa con los diferentes elementos físicos y químicos, por tal razón para evaluar la calidad del suelo debe tenerse en cuenta análisis microbiológico y físico-químico en conjunto.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar adicionalmente a lo realizado en este trabajo como índices evaluativos de la calidad del suelo la actividad respiratoria y celulolítica, la capacidad nitrificadora y otros indicadores del suelo y el cultivo, estudios adicionales para un mejor diagnóstico de la calidad del suelo.
- Para futuros estudios se recomienda complementar la información obtenida con métodos moleculares que permitan examinar la diversidad microbiana sin las limitaciones relacionadas con los métodos de cultivo tradicionales y de ésta forma poder tomar determinaciones con respecto al uso de biofertilizantes como ayuda en el mejoramiento de la calidad del suelo y cultivos.

## BIBLIOGRAFIA

Andrade G., Linderman RG, Bethlenfalvay GJ (1998). Bacterial associations With the Mycorrhizosphere and Hyphosphere of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 192: 71-79

Andrade G. 2004. Role of Functional Groups Of Microorganisms on the Rhizosphere Microcosm Dynamics. *Plant Surface Microbiology – page proofs as of 12/10/03* by P. Kröner, HD Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Arenas Julissa, Fiorella G. Carpio y Juan J. Guillermo. 2005. Flora fúngica de la rizosfera de *Phaseolus lunatus* «pallar» en Ica, Perú. *Revista Peruana de Biología* ISSN 1727-9933 *versión on-line*. *Rev. peru biol.* v.12 n.3 Lima oct./dic.

Bernal Eleonora, Sebastián Celis, Ximena Galíndez, Claudia Moratto, Jimena Sánchez, Daniel García. 2006. MICROFLORA CULTIVABLE Y ENDOMICORRIZAS OBTENIDA EN HOJARASCA DE BOSQUE (PÁRAMO GUERRERO FINCA PUENTE DE TIERRA) ZIPAQUIRÁ, COLOMBIA. *Acta biol.Colomb.* vol.11 no.2 Bogotá.

Bijayalaxmi N. Devi and Yadava P.S. 2006. Seasonal dynamics in soil microbial biomass C, N and P in a mixed-oak forest ecosystem of Manipur, North-east India. Department of Life Sciences, Manipur University, Imphal 795003, India *Applied Soil Ecology* Volume 31, Issue 3, Pages 220-222

Brigatto A. Ulisses and G. Andrade. 2003. Evaluation of the functional group of microorganisms as bio-indicators on the rhizosphere microcosm *State University of Londrina, Biological Science Center, Department of Microbiology, Microbial Ecology Laboratory, PO Box 6001, 86051-990 Londrina, PR, Brazil.*

Buyer S. Jeffrey, Daniel P Roberts, Estelle Russek-Cohen. 2002. Soil and plant effects on microbial community structure. *Canadian Journal of Microbiology.* Tomo48, N° 11; pg. 955, 10 pgs

Carniero, R., L. Mendes, P. Lovato, A. Carvalho y L. Vivaldi. 2004. Indicadores biológicos asociados ao ciclo de fósforo em solos de cerrado sob plantio direto e plantio convencional. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 39(7), 661-669.

Cazorla Francisco M. Pseudomonas por los suelos: biocontrol en la rizosfera. [artículo Internet]. *Investigador Postdoctoral en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Leiden (Holanda)* [consulta Febrero de 2008].

Cervantes M. A. 2005. Microorganismos del suelo beneficiosos para los cultivos. [artículo de internet] [www.infoagro.com/hortalizas/images/bacterias.jpg](http://www.infoagro.com/hortalizas/images/bacterias.jpg)> [consulta: 12 Diciembre de 2007] profesor titular del Centro de F. P. CAMPOMAR.

Céspedes Maria C., Stone Alexandra and Dick Richard P. 2005. Organic soil amendments: Impacts on snap bean common root rot (*Aphanomyces euteiches*) and soil quality. *Applied Soil Ecology* Volume 31, Issue 3, Pages 199-210.

[cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm](http://cenamec.org.ve/.../actividades/act16.htm). QUE HAY EN EL SUELO?. [artículo de Internet]. [consulta Noviembre de 2007]

Crecchio Carmine, Maddalena Curc, Antonella Pellegrino, Patrizia Ricciuti, Nunzia Tursi and Pacifico Ruggiero. 2007. Soil microbial dynamics and genetic diversity in soil under monoculture wheat grown in different long-term management systems. *Soil Biology and Biochemistry*. Volume 39, Issue 6, Pages 1391-1400

Créptin, J. y R. Johnson. 2000. Soil sampling for environmental assessment. *Soil sampling and methods of analysis*. Canadian Society of Soil Science.

Elein Alfonso, Ángel Leyva, Annia Hernández 2005. Microorganismos benéficos como Biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Revista Colombiana de Biotecnología* Vol. VII No. 2 p47-54

Fontúrbel Francisco R. 2004. Uso de algunos parámetros indicadores microbiológicos y bioquímicos para la evaluación de la contaminación por hidrocarburos y la biodegradación de los mismos, en la zona del lago titikaka (san pedro de tiquina, bolivia) *Ecología Aplicada*, 3(1,2).

Font L., Bernardo Calero y Antonio Del Castillo. 2002. Estado Microbiológico del Suelo, base del manejo integral de un agroecosistema citrícola. *LEISA Revista de Agroecología*.

Guerrero R., Berlanga M. 2005. Microbios en la niebla: descubriendo el papel de los microbios en la biosfera E.cosistemas. [artículo de Internet] ([URL:http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=108&Id\\_Categoria=2&tipo=portada](http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=108&Id_Categoria=2&tipo=portada)). [consulta Noviembre 2007].

Hernández Annie, Alberto Caballero, Mabel Pazos, Rolando Ramírez, Mayra Heydrich. 2003. Identificación de algunos Géneros Microbianos Asociados al Cultivo del Maíz (*Zea mays L.*) en diferentes suelos de Cuba. *Revista Colombiana de Biotecnología*, Vol 5, No 1

Hernandez Luis G., Escalona A. Miguel. 2003. Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR. La ciencia y el hombre revista de divulgación científica y tecnologica de la universidad veracruzana. volumen XVI. Numero 1.

Hernández Rubén. PhD. 2005. RESPUESTAS DE LAS PLANTAS A LOS FACTORES AMBIENTALES. (Material didáctico), Profesor de Fisiología Vegetal, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes - Mérida - Venezuela e-mail: [rubenhg@ula.ve](mailto:rubenhg@ula.ve) Revisado.

Hillel D. 2005. Plant Growth-Promoting Soil. Y Bashan and L E de-Bashan, Center for Biological Research of the Northwest (CIB), La Paz, Mexico Elsevier, Oxford, U.K. Vol. 1., pp. 103-115. 2200 p.

Karthikeyan B., C. Abdul Jaleel , G.M.A. Lakshmanan , M. Deiveekasundaram. 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 62 p143–145

Kennedy A C. and Papendick R I. 1995. Microbial characteristics of soil quality. Journal of Soil and Water Conservation. Ankeny.Tomo50, N° 3; pg. 243

León S. Tomás. 2005. La agricultura ecológica como posición política frente al actual modelo de desarrollo agrario colombiano. Acta Biológica Colombiana, Vol. 10 No. 1 p67

Lemenih, M., Karlun, E., Olsson, M., 2005. Assessing soil chemical and physical property responses to deforestation and subsequent cultivation in smallholders farming system in Ethiopia. Agric. Ecosyst. Environ.105, 373–386.

Lidieth Uribe. 1999. USO DE INDICADORES MICROBIOLOGICOS DE SUELOS: VENTAJAS Y LIMITES. Laboratorio de Microbiología de Suelos, Centro de Investigaciones Agronómicas. Conferencia 69; XI Congreso Nacional Agronómico/ III Congreso Nacional de Suelos.

Matsumoto, L., A. Martines, M. Avanzi, U. Albino, C. Brasil, D. Saridakis, L. Rampazo, W. Zangaro y G. Andrade. 2005. Interactions among functional groups in the cycling of carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical woody trees. Applied Soil Ecology 28 p57–65

Nogales B. 2005. ECOSISTEMAS REVISTA CIENTIFICA Y TECNICA D ECOLOGIA Y MEDIO AMBIENTE La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. El suelo como hábitat para los microorganismos. *Ecosistemas*. [artículo de Internet].

[http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=116&Id\\_Categoria=2&tipo=portada](http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=116&Id_Categoria=2&tipo=portada))

[consulta 15 de Enero de 2008]

Nogueira M.A., U.B. Albino , O. Brandaño-Junior, G. Braun, M.F. Cruz, B.A. Dias, R.T.D. Duarte, N.M.R. Gioppo , P. Menna, J.M. Orlandi, M.P. Raimam, L.G.L. Rampazo, M.A. Santos, M.E.Z. Silva, F.P. Vieira, J.M.D. Torezan, M. Hungria, G. Andrade. 2006. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration Among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 115 p237–247.

Osorio V. Nelson 2007. A Review on Beneficial Effects on rhizosphere Bacteria on Soil Nutrient availability and plant nutrient uptake. *Revista Facultad Nal.Agr.Medellín*.Vol.60,No.1.p.3621-3643.

Pardo L. Luis Carlos, Claudia P. Vélez, Fernando Sevilla y Otoniel Madrid. 2006. Abundancia y Biomasa de macroinvertebrados edáficos en la temporada lluviosa, en tres usos de la tierra, en los Andes Colombianos. Investigación desarrollada con la orden de trabajo 5102 del Grupo Empresarial Sostenible CVC. Editado para publicación en el marco de la disertación doctoral en Biología. [artículo de Internet]. [http://www.sinab.unal.edu.co/revistas/index.php/acta\\_agronomica/article/view/194/466](http://www.sinab.unal.edu.co/revistas/index.php/acta_agronomica/article/view/194/466).

Pozuelo González, José Manuel (2002) *Estudio de grupos funcionales de microorganismos edáficos en la rizosfera de *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.* Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid. Tesis Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Ecología.

Rodríguez H. and Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *CP 11 000, Havana, Cuba*. *Biotechnology Advances* 17 p319–339

Sai'dou Nourou Sall, Dominique Masse, Nde`ye Yacine Badiane Ndour , Jean-Luc Chotte. 2006. Does cropping modify the decomposition function and the diversity of the soil microbial community of tropical fallow soil?. *Applied Soil Ecology* 31 p211–219

Sivila de Cary R. and Dominique Hewé ' 1994. El estado microbiológico del suelo, indicador de una restauración de la fertilidad. Instituto de Ecología, UMSA, Casilla 10077, LA Paz ' IBTA-ORSTOM, Casilla 9214, La Paz.

Schlöter M., H. -J. Bach, S. Metz, U. Sehy and J. C. Munch. 2003. Influence of precision farming on the microbial community structure and functions in nitrogen turnover. *Agriculture, Ecosystems & Environment* Volume 98, Issues 1-3, Pages 295-304. Biotic Indicators for Biodiversity and Sustainable Agriculture.

Schlöter M., Dilly O. and Munch J.C. 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Volume 98, Issues 1-3 , Pages 255-262 Biotic Indicators for Biodiversity and Sustainable Agriculture.

Terry Eley, Alfonso\*, Ángel Leyva\*, Annia Hernández. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. VII No. 2 p47-54

Torres Martha y Lizarazo Luz M., 2006. Evaluación de grupos funcionales (ciclo del C, N, P) y actividad de la fosfatasa ácida en dos suelos agrícolas del departamento de Boyacá (Colombia), *Agronomía Colombiana* 24(2): 317-325.

Uribe K. Oscar, Córdoba CA, Sánchez J, Castellanos D. 2004. Efecto de dos tipos de compost y un biofertilizante sobre algunas poblaciones microbianas edáficas y su posible relación con el desarrollo de un cultivo de zanahoria y cebolla en el municipio de pueblo rico (risaralda, colombia) *Acta Biológica Colombiana*, Vol. 9 No. 2. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

Valé M., Nguyen C., Dambrine E. and Dupouey J. 2005. Microbial activity in the rhizosphere soil of six herbaceous species cultivated in a greenhouse is correlated with shoot biomass and root C concentrations. *Soil Biology and Biochemistry* Volume 37, Issue 12, Pages 2329-2333.

Vargas S. Gil , S. Pastor and G.J. March. 2007. Quantitative isolation of biocontrol agents *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp. and actinomycetes from soil with culture media. Instituto de Fitopatología y fisiología vegetal, Córdoba, Argentina

Vélez L. Jorge, Arteaga M. Germán, Castillo F. Jesús, Menjivar F. Juan Carlos. 2006. Variaciones en el pH de la rizosfera y en el porcentaje de materia seca de *Vicia sativa* al aplicar dos fuentes fosfatadas de baja solubilidad en un andisol del departamento de Nariño, Colombia. Artículo derivado de la Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias del primer autor en el convenio Universidad Nacional de Colombia sede Palmira - Universidad de Nariño.

Vieira F.C.S. and E. Nahas. 2005. Comparison of microbial numbers in soil by using various culture media and temperatures. *Microbiological Research*, Volume 160, Issue 2, 25, Pages 197-202.

Yang et al., 2000. Effects of agricultural chemicals on the DNA sequence diversity of microbial communities. *Microbiol. Ecol.* 39, pp. 72–79.

# **ANEXOS**

## Anexo 1. Agroquímicos utilizados en cultivos de Tabaco

<b>AGROQUIMICOS UTILIZADOS EN TABACO NEGRO</b>		
<b>NOMBRE COMERCIAL</b>	<b>INGREDIENTE ACTIVO</b>	<b>UTILIZACIÓN</b>
GRAMOXONE	PARAQUAT	Herbicida
GLIFOSOL	GLIFOSATO	Herbicida
MONITOR	METAMIDAFOS	Insecticida
TAMARON	METAMIDAFOS	Insecticida
LANNATE	METOMYL	Insecticida
EVISECT	THIOCYCLAM	Insecticida
ACTARA	IAMETOXAM	Insecticida
DIPTEREX	TRICLORFON	Insecticida
LATIGO	CLORPIRIFOS	Insecticida
SISTEMIN	DIMETOATO	Insecticida
MALATHION	MALATHION	Insecticida
ORTHENE SP 75	ACEFATO	Insecticida
CEVIN 80 WP	CARBARIL	Insecticida
LORSBAN	CLORPIRIFOS	Insecticida
VITAVAX	CARBOXIN	Fungicida (Semillero)
PREVICUR	PROPAMOCARB	Fungicida (Semillero)
MANZATHE	MANCOZEB	Fungicida
DITHANE	MANCOZEB	Fungicida
VONDOZEB	MANCOZEB	Fungicida
RIDOMIL	METALAXIL	Fungicida
ANTRACOL	PROPINEB	Fungicida
RIZOLEX	TOLCLOFOS	Fungicida
MERTEC	TIABENDAZOL	Fungicida
DUTER	FENTIN	Fungicida
CARBOFURAN	CARBOFURAN	Insecticida y Nematicida
FURADAN	CARBOFURAN	Insecticida y Nematicida
UREA 46%		Fertilizante
15.15.15		Fertilizante
14.14.14.2		Fertilizante
10.20.20		Fertilizante
10.30.10		Fertilizante
NITRON 26%		Fertilizante

## **Anexo 2. MEDIO DE CULTIVO PARA CELULOLÍTICOS (Word, 1980)**

Carboximetil celulosa		5gr/L
Nitrato de amonio	NO <sub>3</sub> NH <sub>4</sub>	1gr
Solución salina 0.85%		50ml
Agar		15gr
Extracto de suelo (v/v)		950ml
<b>pH</b>		7.0

**REVELADO:** Adicionar solución de rojo congo 0.1% por 30 min. Remover y adicionar (solución salina) NaCl 1M en la superficie del medio hasta observar aros (halos) alrededor de las colonias, contar estas colonias.

### **EXTRACTO DE SUELO:**

500G de Suelo → 1 Litro de Agua destilada (da un rendimiento de 700 a 800ml de extracto)

**Anexo 3 Medio De Cultivo Para Proteolíticos (Word 1980-Modificado Por Andrade, 2003)**

Caseína		<b>10gr/L</b>
Extracto de levadura		<b>0.1gr</b>
Fosfato de potasio	<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	1.5gr
Sulfato de magnesio heptahidratadp	<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.5gr</b>
Solución salina 0.85%		<b>50ml</b>
agar		<b>15gr</b>
Extracto de suelo		<b>950ml</b>
<b>pH</b>		<b>6.8</b>

**REVELADO:** Adicionar HCl 0.1N remover exceso

#### Anexo 4 Medio De Cultivo Para Amilolíticos (Pontecorvo Et Al, 1953)

Almidón soluble		<b>10gr/L</b>
caseína		<b>10gr</b>
glucosa		<b>1gr</b>
Fosfato ácido de sodio	<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	<b>3gr</b>
Sulfato de magnesio heptahidratado	<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.1gr</b>
Agar		<b>15gr</b>
Extracto de suelo		<b>950ml</b>
<b>pH</b>		<b>7.0</b>

Para observar el halo de degradación del almidón, adicionar una solución de Yodo o Lugol a la superficie del medio sobre las colonias formadas, remover el exceso y contar.

## Anexo 5 Medio De Cultivo Amido-Caseína Agar (Kuster & Williams 1964)

Para evaluar actinomicetos

Almidón soluble		10gr/L
caseína		0.3gr
Nitrato de potasio	KNO <sub>3</sub>	2gr
Cloruro de sodio	NaCl	2gr
Fosfato de dipotasio	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2gr
Sulfato de magnesio heptahidratado	<b>MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</b>	0.05gr
Carbonato de calcio	CaCO <sub>3</sub>	0.02gr
Sulfato ferroso	FeSO <sub>4</sub>	0.01gr
Agar		15gr
Agua destilada		1000ml
pH		6.5

## Anexo 6 Medio De Cultivo De Burk (Wilson And Knight, 1952)

Para bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> que utilizan glucosa como fuente de carbono

### SOLUCIÓN A

Fosfato de dipotasio	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6.4gr/L
Fosfato de potasio	<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	1.6gr
Agua destilada		1000ml

### SOLUCIÓN B

Cloruro de sodio	<b>NaCl</b>	2gr/L
Sulfato de magnesio	<b>MgSO<sub>4</sub></b>	2gr
Agua destilada		1000ml

### SOLUCIÓN C

Molibdato de sodio dihidratado	NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> o	0.01gr/L
Sulfato ferroso	<b>FeSO<sub>4</sub></b>	0.03gr
Agua destilada		1000ml

### PREPARADO DEL MEDIO DE CULTIVO

SOLUCIÓN A	100ml
SOLUCIÓN B	100ml
SOLUCIÓN C	100ml
Glucosa	5gr/L
Agua destilada	700ml
Agar	15gr
pH	7.2
Autoclavar 115°C/30 min	

## Anexo 7 Medio De Cultivo Nfb (Dobereiner And Day, 1976)

Bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> con malato FC

Fosfato de potasio	<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	0.4gr/L
Fosfato de potasio	<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	0.1gr
Sulfato de magnesio heptahidratado	<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0.2gr
Cloruro de magnesio	NaCl	0.1gr
Cloruro de calcio	CaCl <sub>2</sub>	0.02gr
Cloruro de hierro	FeCl <sub>3</sub>	0.01g
Molibdato de sodio dihidratado	NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O MoO <sub>4</sub> Na.2H <sub>2</sub> O	0.002gr
Malato sódico- Ac. Málico		5gr
Azul de bromotimol sol. Alcohólica 0.5%)		5ml
Agar		15gr
Agua destilada		1000ml
pH		6.8
(Ajustar con KOH)		

## **Anexo 8**

- **ROSA DE BENGALA**

Para Hongos Totales

RB → 32g/L

- **MEDIO TSA**

Para Bacterias Heterotróficas

TSA → 40g/L

## Anexo 9

- MEDIO KING B (Scher and Baker, 1982)

Para Pseudomonas

Peptona		20g/L
Glicerol		10ml
Fosfato de potasio	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.5g
Sulfato de magnesio heptahidratadp	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.5g
agar		15gr
Agua destilada		1000ml
pH		6.8

Para mayor especificidad se adiciona los siguientes antibióticos, después de esterilizar:

- Ampicilina ( ) 50µg/ml →  $V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2 \rightarrow V1 = V2 \cdot C2 / C1$
  - Cloranfenicol ( ) 12.5µg/ml
- \* Se puede utiliza Medio Cetrimide, que sirve tambien para Pseudomonas fluorescentes

## Anexo 10

- MEDIO PK

### Bacterias Solubilizadoras de Fosfato

Glucosa		10gr/L
Fosfato de Calcio tribasico		5gr
Cloruro de Potasio		0.2gr
Sulfato de Amonio		0.5g
Sulfato de magnesio heptahidratadp	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.3g
Sulfato de Manganeso		0.004g
Sulfato Ferroso		0.002gr
Cloruro de Sodio	NaCl	2gr
Extracto de Levadura		0.5ml
Purpura de Bromocresol		0.1gr
Agar		15gr
Agua destilada		1000ml
pH		7.0

El Fosfato de Calcio Tribasico se debe autoclavar solo por aparte del medio líquido, y se mezcla justo antes de servir.