

## Efecto de Vinazas sobre Hongos que Forman Micorriza Arbuscular en un Molisol del Valle del Cauca, Colombia

Effect of Vinasse on Arbuscular Mycorrhizal Fungi in a Mollisol of Cauca Valley (Colombia)

Diana Cristina Velásquez Pomar<sup>1</sup> y Marina Sánchez de Prager<sup>2</sup>

**Resumen.** La adición de etanol a la gasolina busca disminuir la contaminación ambiental; sin embargo, su producción genera vinaza, un material contaminante en cuerpos de agua. Por su alta concentración de K y potencialidad como fertilizante, los ingenios azucareros del Valle del Cauca (Colombia), adelantan investigaciones dirigidas a mejorar la productividad y efectos en propiedades químicas y físicas del suelo. Son escasas las publicaciones sobre su influencia en propiedades biológicas como hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA), componente sensible y estrechamente asociado con la nutrición de las plantas y condiciones físicas del suelo. Con el fin de conocer si algunos componentes de HMA se afectan por vinazas, se sembró maíz blanco (*Zea mays* L. SV1127) en un Pachic Haplustolls del Valle deficiente en K, bajo condiciones de invernadero. Se utilizó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos: testigo absoluto y 4 correspondientes a vinaza: KCl en proporciones de 100:0, 75:25, 50:50 y 0:100. La longitud de micelio externo (LME), micelio externo vivo y activo (MEV), glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT), fueron estimados a los 36 y 70 días después de siembra. Con excepción de la GFE, las demás variables respondieron significativamente a los tratamientos. Al suplir el K por vía orgánica (vinaza) o inorgánica KCl, LME y MEV se incrementaron. El máximo valor para LME fue 10,4 m·g<sup>-1</sup>, con 100% vinaza. GT fue sensible a la fuente de K utilizada y se deprimió con KCl 100%. Incrementos en la actividad biológica pueden estar relacionados con los efectos de la vinaza sobre LME y MEV. Estudios indican que gradientes de fertilidad pueden afectar la GT, asociados a tasas de descomposición de esta molécula.

**Palabras clave:** Suelo, biocombustible, micelio externo HMA, glomalina.

**Abstract.** In order to reduce environmental pollution, a mix of ethanol gasoline has been used; however, the ethanol production generates vinasse, a pollutant in water. Because vinasse has a high concentration of K and has the potential as fertilizer, the "Ingenios azucareros" of Cauca Valley (Colombia), have begun research to improve the productivity and vinasse effects on chemical and physical soil properties. There are few publications about vinasse's effect on biological properties, such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). In order to know if AMF are affected by vinasse, white corn (*Zea mays* L. SV1127) was grown in a Pachic Haplustolls of a Cauca Valley with potassium deficient, under greenhouse conditions. A completely randomized design was established with 5 treatments: one control and 4 with vinasse:KCl in a ratio of 100:0, 75:25, 50:50 and 0:100 proportions. The external mycelium length (EML), activity of external mycelium (AEM), easily extractable glomalin (EEG) and total glomalin (TG) were estimated 36 and 70 days after sowing. With the exception of EEG, the other variables were significantly affected by treatments. The results indicate that to supply K deficiency through vinasse or KCl, increased significantly EML (maximum value 10,4 m·g<sup>-1</sup> with 100% vinasse) and AEM (between 50 - 62%). TG was sensitive to the source of K (organic or inorganic) and depressed by 100 % KCl. Increases in biological activity could be related with effects of vinasse on EML and AEM. Studies indicate that fertility gradients affect TG, related to rates of decomposition of this molecule.

**Key words:** Soil, biofuel, external mycelium AMF, glomalin.

El consumo energético actual influye en la generación de gases con efecto invernadero (GEIs), en el cambio climático global (IPCC, 2007) y en el deterioro de los recursos naturales. Según ASOCAÑA (2005) y Quintero *et al.* (2006), una de las alternativas para disminuir GEIs es la adición de etanol a la gasolina, Colombia adoptó esta medida una vez expedida la Ley 693 de 2001 del Congreso de la República y el Valle del Cauca es pionero de esta tecnología que hoy se extiende a varias regiones del país (Gnecco, 2004; Mancheno, 2006; Higuera *et al.*, 2007).

La producción de etanol requiere del uso de biomasa vegetal y genera vinaza como subproducto de composición variable según provenga de melaza de caña, jugo o la mezcla de ambos. La vinaza es rica en N, K, Ca, S y pobre en P (Korndörfer *et al.*, 2004; Quintero *et al.*, 2006). Al año 2008, los ingenios azucareros del Valle del Cauca (Colombia), lograron concentraciones de sólidos totales (ST) en la vinaza entre el 15 y el 20%. Según información suministrada por el Ingeniero Javier Jaramillo, Jefe del Laboratorio Químico de Campo del Ingenio Providencia, en

<sup>1</sup> Ingeniera Forestal. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Facultad Ciencias Agropecuarias. Carrera 32 No 12-00, Palmira, Colombia. <dcvelasquezp@unal.edu.co>

<sup>2</sup> Profesora Titular. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Facultad Ciencias Agropecuarias. A.A 2372, Palmira, Valle del Cauca, Colombia. <msanchezdp@palmira.unal.edu.co>

Recibido: Mayo 11 de 2009; aceptado: Abril 4 de 2011.

entrevista realizada en junio de 2008, se generan de 1 a 2 L de vinaza por cada 1 L de alcohol producido.

La vinaza tiene alto contenido de componentes orgánicos, el valor de DBO5 (Demanda Bioquímica de Oxígeno) para una concentración del 10% de ST (m/m), puede ser de 41.200 mg L<sup>-1</sup> y se incrementa al concentrarse. Así, se constituye en altamente contaminante si se dispone directamente en un cuerpo de agua (Korndörfer *et al.*, 2004; García y Rojas, 2006).

Según Minambiente (2007), hacia junio de 2006 la producción de etanol era de 1.000.000 L·día<sup>-1</sup> en tanto que para el año 2009, la producción alcanzó los 324 millones de litros, con su consecuente generación de vinaza e impacto ambiental, motivo por el cual se buscan opciones para su disposición final. En el Valle del Cauca, una de las alternativas es adicionarla al suelo como fuente de potasio en cultivos de caña de azúcar (Gnecco, 2004; Mancheno, 2006; Higuera *et al.*, 2007). Los ingenios azucareros realizan trabajos de investigación enfocados a su uso como mejoradora de las condiciones químicas del suelo y como activadora en la descomposición de residuos de cosechas (García y Rojas, 2006).

Estudios de Rodríguez *et al.* (1999); Tenorio *et al.* (2000); Zuñiga *et al.* (2000); Lotero (2006); Tejada *et al.* (2007); Montenegro (2008) y Narváez (2008), registran tanto efectos positivos como negativos con la adición de vinazas al suelo, lo cual está ligado al tipo de suelo, a la dosis aplicada y al tratamiento previo antes de su adición. Las investigaciones registran efectos sobre pH, P, K, Ca, Mg, S, Mn, materia orgánica, bicarbonatos, bases totales, cloruros, conductividad eléctrica y salinidad, y sobre la respiración microbiana, biomasa microbiana y actividad enzimática. En Colombia son escasas las publicaciones acerca de efectos de la vinaza sobre los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA), indicador sensible a cambios asociados a nutrición vegetal, especialmente en nutrientes de acceso limitado como P, Cu, Zn y amonio (Ferrol *et al.*, 2002; Douds y Collins, 2007; Johnson *et al.*, 2007; Sánchez *et al.*, 2007; Brundrett, 2008).

Los beneficios de los HMA para el ecosistema en términos de nutrición y salud se han registrado en numerosos estudios a nivel mundial (Rillig and Mummey, 2006; Douds y Collins, 2007; Sánchez de P. *et al.*, 2007; Brundrett, 2008). En los últimos años se

ha descrito una glicoproteína denominada glomalina, la cual interviene en la agregación del suelo gracias a sus características gomosas, recalcitrantes e hidrofóbicas (Wright and Upadhyaya, 1996). En Colombia apenas se inicia su estudio individual y significado sobre la micorriza arbuscular (MA) en los diferentes cultivos, al igual que el efecto que pueden ejercer diversas prácticas agronómicas sobre su presencia, entre ellas, el manejo de vinazas. Dentro de este marco se planteó como objetivo del presente trabajo, caracterizar el efecto de diferentes dosis de vinaza y KCl sobre componentes de HMA nativos: longitud del micelio externo (LME), porcentaje de micelio externo vivo y activo (MEV) y producción de glomalina. Se seleccionó un suelo del Valle del Cauca (Pachic Haplustoll) y el cultivo objeto fue maíz blanco (*Zea mays* L.) SV1127.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Localización.** El experimento se ubicó en un lote experimental de la Universidad Nacional de Colombia en la ciudad de Palmira, a 1.000 m de altitud, 24 °C de temperatura promedio, precipitación promedio anual de 800 a 1.000 mm·año<sup>-1</sup> y humedad relativa del 70% (Gobernación del Valle del Cauca, 2008).

**Descripción del diseño experimental.** Para cumplir con los objetivos propuestos se requería que el ensayo se efectuara en un suelo que presentara deficiencias de K, para lo cual se recurrió a un Molisol (Pachic Haplustoll) ubicado en el Ingenio Providencia, el cual cuenta con un historial de 80 años sembrando caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Al momento de recolectar el suelo, la caña contaba con menos de un mes de edad sin fertilizar. En la Tabla 1 se incluyen algunas de las características químicas y físicas del suelo, antes de iniciar el experimento.

Puede observarse que el pH es ligeramente ácido (Jaramillo, 2002), con alto contenido de MO, esperado para las condiciones planas del Valle del Cauca, muy alto en P, dado el manejo del suelo con fertilizantes de síntesis química, altos contenidos de S, Ca y Mg, medios a bajos para K y bajo en Na (ICA, 1992; Sánchez, 2003). En cuanto a los elementos menores, los contenidos de B y Mn son altos, Zn, Fe y Cu son bajos (ICA, 1992). Con respecto a propiedades físicas, la densidad aparente es normal para esta zona, su textura franco limosa permite esperar adecuada capacidad de retención de agua y nutrientes (Jaramillo, 2002).

**Tabla 1.** Análisis químico y físico del suelo utilizado en el experimento. Pachic Haplustoll, Ingenio Providencia (Palmira, Colombia).

Característica	Contenido <sup>3</sup>
pH	6,23
MO (g kg <sup>-1</sup> )	47,84
P-Bray II (mg L <sup>-1</sup> )	197,35
K (cmol kg <sup>-1</sup> )	0,27
Ca (cmol kg <sup>-1</sup> )	17,34
Mg (cmol kg <sup>-1</sup> )	5,88
Na (cmol kg <sup>-1</sup> )	0,07
CIC (cmol kg <sup>-1</sup> )	24,25
S (mg L <sup>-1</sup> )	55,56
B (mg L <sup>-1</sup> )	1,41
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	7,19
Mn (mg L <sup>-1</sup> )	47,85
Cu (mg L <sup>-1</sup> )	1,42
Zn (mg L <sup>-1</sup> )	3,55
Da	1,15 g cm <sup>-3</sup>
Textura	Franco limoso

<sup>3</sup> Laboratorio de servicios analíticos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y Laboratorio de Física de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira (mayo de 2008).

Los tratamientos consistieron en combinaciones de vinaza (19% ST) + cloruro de potasio (KCl) como fuentes de K para el cultivo de maíz blanco SV1127; además, se adicionó N para complementar la fertilización según

las recomendaciones nutricionales para este cultivo y de acuerdo con información suministrada por el Señor Juan Ángel Núñez de Semillas Valle S.A. en entrevista realizada en mayo de 2008 (Tabla 2).

**Tabla 2.** Descripción de los tratamientos diseñados con vinaza del 19% ST para evaluar el efecto de hongos que forman micorriza arbuscular en un molisol del Valle del Cauca, Colombia.

Tratamientos	Descripción
T0	Testigo absoluto (planta de maíz sin fertilización)
T1	0% vinaza + 100% KCl + N
V3	50% vinaza + 50% KCl + N
V2	75% vinaza + 25% KCl + N
V1	100% vinaza + N

La fuente de N fue úrea. En términos de L·ha<sup>-1</sup>, la aplicación de vinaza correspondió a 10.467, 7.850 y 5.233 para V1, V2 y V3, respectivamente.

después, 40% de requerimientos de K y 50% de N. No se aplicó P debido a que el contenido de este elemento en el suelo era alto (Tabla 1).

Los tratamientos se aplicaron en forma fraccionada así: la primera aplicación se efectuó a los 8 d luego de la siembra, consistente en 60% de requerimientos de K y 50% de N. La segunda aplicación se hizo 30 d

El análisis químico de la vinaza utilizada (Tabla 3) presentaba condiciones muy ácidas, alta conductividad eléctrica y alto contenido de MO. Sobresalen los contenidos de Ca, K, Fe y Mn.

**Tabla 3.** Composición de la vinaza de 19% ST empleada para establecer su efecto sobre los hongos que forman micorriza arbuscular en un molisol del Valle del Cauca, Colombia.

Característica	Contenido <sup>4</sup>
pH	4,3
CE (ds m <sup>-1</sup> )	7,82
MO (%)	9,61
N- Total (%)	0,39
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	0,16
CaO (%)	0,67
MgO (%)	0,42
K <sub>2</sub> O (%)	1,43
Na <sub>2</sub> O (%)	0,07
S (%)	0,33
B (mg L <sup>-1</sup> )	8,64
Cu (mg L <sup>-1</sup> )	18,48
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	30,67
Mn (mg L <sup>-1</sup> )	85,22
Zn (mg L <sup>-1</sup> )	11,60

<sup>4</sup> Laboratorio Químico de Campo, Ingenio Providencia (Palmira, Colombia - Junio 2008).

Para generar condiciones homogéneas, el suelo se tamizó usando una zaranda y posteriormente se dejó en baldes de 15 L durante 20 d con riego diario, con el fin de facilitar su consolidación<sup>5</sup>. Luego se sembraron las semillas de maíz blanco y se ubicaron en una construcción cubierta con techo plástico que asegurara circulación de aire y protección de la lluvia.

El diseño experimental fue completamente al azar con medidas en el tiempo, empleando 5 repeticiones por cada tratamiento, es decir 25 unidades experimentales en total. Además se ubicaron 20 plantas alrededor del experimento para evitar efectos de borde.

**Variables evaluadas y muestreos.** Las variables biológicas estimadas fueron: longitud de ME (LME), ME vivo y activo (MEV), glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT). A partir de una muestra compuesta de suelo tomada al azar, se realizó la caracterización química inicial y se estimaron la mayoría de las variables objeto de estudio, con el fin de referenciar los valores de partida. Así mismo, se efectuaron dos muestreos en momentos claves de la

fisiología del cultivo: antes de floración (36 d después de la siembra, DDS) y época de llenado de fruto (70 DDS). Fuera de ello se contó con el análisis químico de la vinaza utilizada.

**Longitud de micelio externo (LME).** Para la extracción y cuantificación del micelio externo se usó la técnica del filtro de membrana (Miller y Jastrow, 1992) y lecturas por el método del intercepto (Tennant, 1975), descrito en Torres (2000) y Reyes (2001). Este proceso inicia con la dispersión de 5 g de suelo en hexametáfosfato de sodio al 5%, posterior lavado con 500 mL de agua deionizada con tamiz de 25 µm, dilución de la muestra para facilitar su observación al microscopio y finalmente recolección del micelio en equipo de filtración al vacío con filtros de nitrocelulosa de 1,2 µm. Allí el micelio puede ser teñido con azul de tripano para facilitar la cuantificación de su longitud en términos de m·g<sup>-1</sup> de suelo (peso seco).

**Micelio externo vivo y activo (MEV).** Se trata de una tinción vital que separa la fracción del micelio de HMA comprometida en la absorción de fósforo (ATP). Se basa en la estimación de la actividad de la succinato - deshidrogenasa, parte del complejo enzimático

<sup>5</sup> Edgar Amézquita Collazos - Ph.D en Suelos - CORPOICA.

ligado al ciclo de Krebs (Hamel *et al.*, 1990). Se siguió la metodología adaptada por el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Santacruz de Tenerife, España (2007).

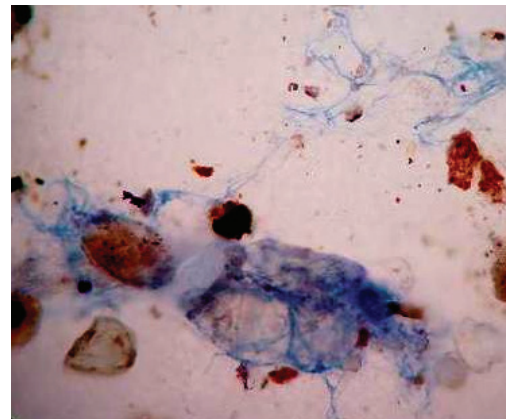
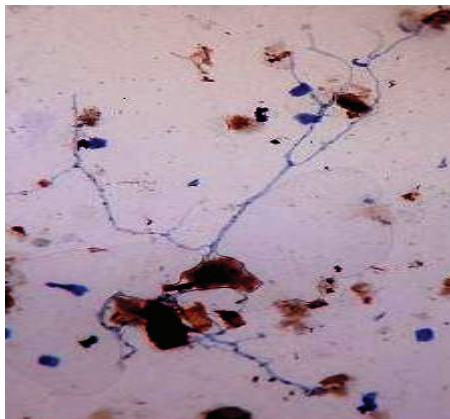
**Glomalina fácilmente extractable (GFE) y glomalina total (GT).** Se usó el método de Wright y Upadhyaya (1998), con algunas modificaciones. Para ello se extrae la glomalina del suelo en dos fracciones operacionalmente definidas: GFE y GT. Se adiciona citrato de sodio, concentración de 20 mM y pH de 7,0; a una muestra de suelo, se somete a 120 °C en autoclave. Este proceso se realiza una sola vez para extraer GFE y varias veces para el caso de GT. Para la cuantificación de la glomalina se construye una curva patrón con suero albúmina bovino (BSA), usando un espectrofotómetro a 590 nm (Bradford, 1976).

**Análisis estadístico.** Las variables de respuesta se analizaron con el paquete estadístico SAS versión 9.1

(año 2003). Los niveles de significancia usados fueron: no significativo (ns)  $P (\alpha > 0,05)$ , significativo  $P (0,01 \leq \alpha \leq 0,05)$  y altamente significativo  $P (\alpha \leq 0,01)$ . En los casos en los cuales se encontraron diferencias a partir de  $P \leq 0,05$ , entre tratamientos y/o entre épocas de muestreo (36 y 70 DDS), se realizaron pruebas de comparación de medias (Duncan). Para estimar las correlaciones entre las variables se calculó el coeficiente de Pearson con nivel de significancia  $P \leq 0,05$ .

## RESULTADOS

**Longitud de micelio externo (LME).** El análisis de varianza mostró que LME presentó diferencias altamente significativas por efecto de los tratamientos, de la época de muestreo y de la interacción entre estas dos fuentes de variación. En la Figura 1 se observa la LME una vez se extrae en los filtros de nitrocelulosa, teñido con azul de tripano y listo para cuantificar.



**Figura 1.** Extracción de micelio externo de HMA en filtros de nitrocelulosa - tinción con azul de tripano (Foto: Diana Velásquez, 2008).

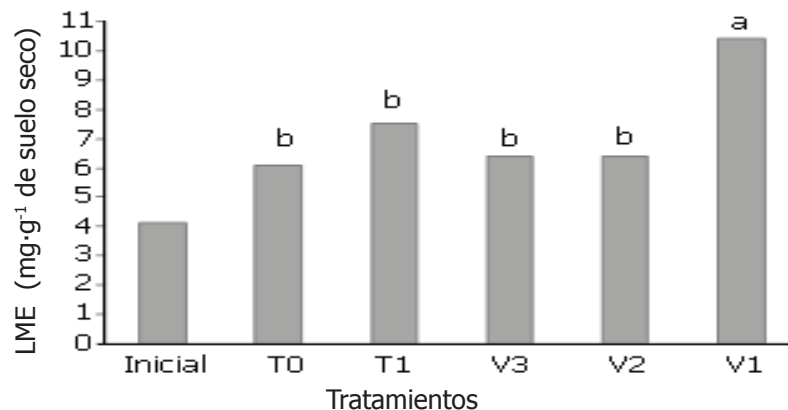
En la Figura 2 se observa que la adición de 100% de vinaza (V1) ocasionó un incremento del 70% en la LME con relación al testigo y el resto de tratamientos, los cuales no variaron significativamente entre sí. A

los 70 DDS se obtuvo el mayor valor de LME (Tabla 4). Con relación al valor de referencia obtenido durante la caracterización inicial, LME fue superior en todos los tratamientos.

**Tabla 4.** Diferencias en longitud de micelio externo de HMA asociados con plantas de maíz blanco SV1127 para cada época de muestreo.

DDS	Media (m·g <sup>-1</sup> de suelo)	Agrupamiento Duncan
0	4,1	-
36	5,8	b
70	8,7	a

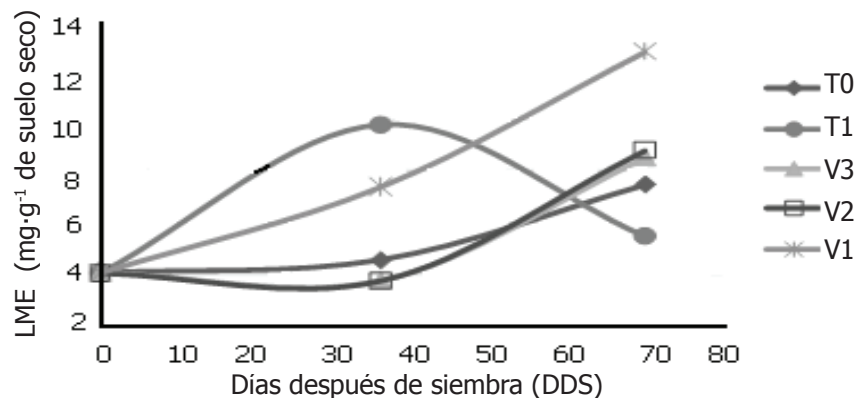
Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ).



**Figura 2.** Efecto del tratamiento sobre la longitud de micelio externo de HMA asociados con plantas de maíz blanco SV1127. (Inicial: promedio de 5 muestras antes de la siembra; T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza: KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes indican diferencia significativa, ( $P \leq 0,01$ ).

En cuanto a la interacción tratamientos por época de muestreo (Figura 3), se observó que antes de la floración (36 DDS) hubo incrementos de LME en T1 (100% KCl) y V1 (100% vinaza) con respecto al testigo, mientras que

en el resto de ellos, los valores fueron menores que en T0. A los 70 DDS, LME en T1 mostró un decrecimiento considerable, a diferencia de los demás tratamientos en los cuales LME continuó incrementándose.



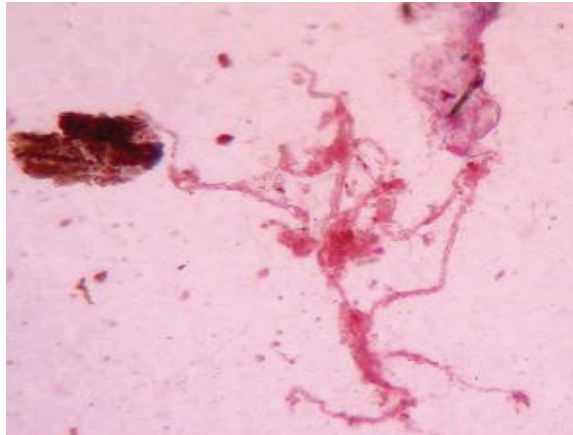
**Figura 3.** Efecto de la interacción entre tratamientos y época de muestreo sobre la longitud de micelio externo de HMA asociado a plantas de maíz blanco SV1127. Coeficiente de variación: 25% (T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza: KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente).

**Micelio externo vivo y activo (MEV).** En la Figura 1 se muestra la tinción tradicional (azul de tripano), donde LME total se observa de color azul. Por el contrario, cuando se aplica la tinción de la succinato deshidrogenasa (SDH), se observa un color fucsia, el cual se fija solamente sobre el micelio vivo y activo (Figura 4), es decir, donde el enzima actúa y participa en el ciclo de Krebs (Sylvia, 1988).

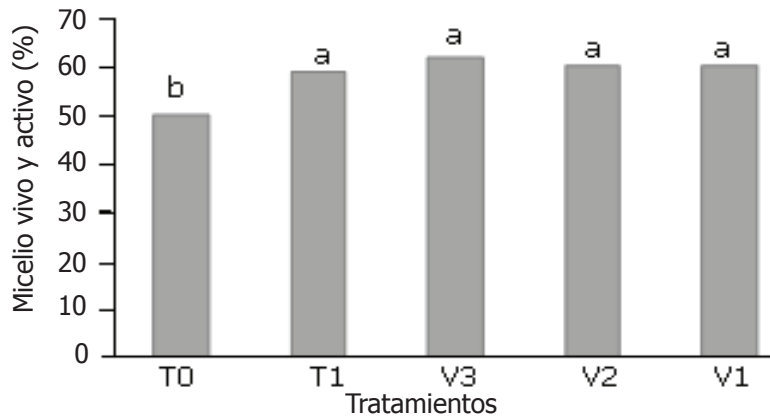
Mientras que LME se afectó por todas las fuentes de variación analizadas, MEV varió significativamente

por los tratamientos y por la interacción. Los 4 tratamientos que incluían fertilización con KCl y/o vinaza fueron estadísticamente similares y sólo presentaron diferencias con T0 (Figura 5).

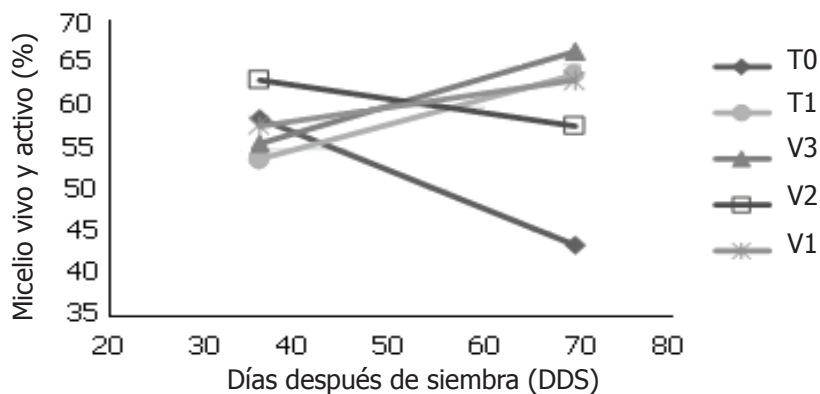
En cuanto a la interacción tratamientos x época de muestreo (Figura 6) la actividad del ME se deprimió considerablemente a través del tiempo en el tratamiento T0, y en forma leve en V2. La aplicación de 100% KCl (T1) y de 100% (V1) y 50% (V3) vinaza, ocasionaron aumentos en esta variable durante el experimento.



**Figura 4.** Extracción de micelio externo vivo y activo de HMA en filtros de nitrocelulosa - tinción de succinato deshidrogenasa (SDH) (Foto: Diana Velásquez, 2008).



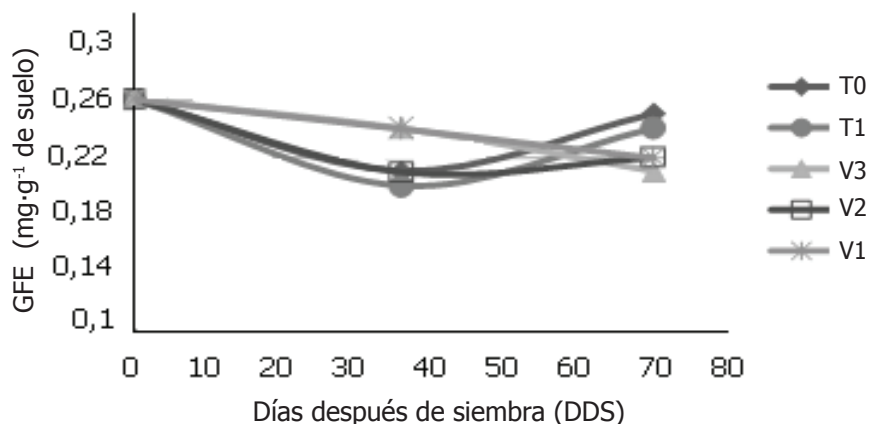
**Figura 5.** Efecto del tratamiento sobre la presencia de micelio externo vivo y activo de HMA asociado con plantas de maíz blanco SV1127. T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes indican diferencia significativa,  $P (0,01 \leq \alpha \leq 0,05)$ .



**Figura 6.** Efecto de la interacción entre tratamientos y época de muestreo sobre la presencia de micelio externo vivo y activo de HMA asociado a plantas de maíz blanco SV1127. Coeficiente de variación: 16,8%. (T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza:KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente).

**Glomalina.** En la curva estándar para la cuantificación de glomalina en sus fracciones GFE y GT, se obtuvo un ajuste de 0,995. Es de resaltar la variabilidad de los datos, lo cual hace que sea un proceso cuya precisión requiere de control permanente.

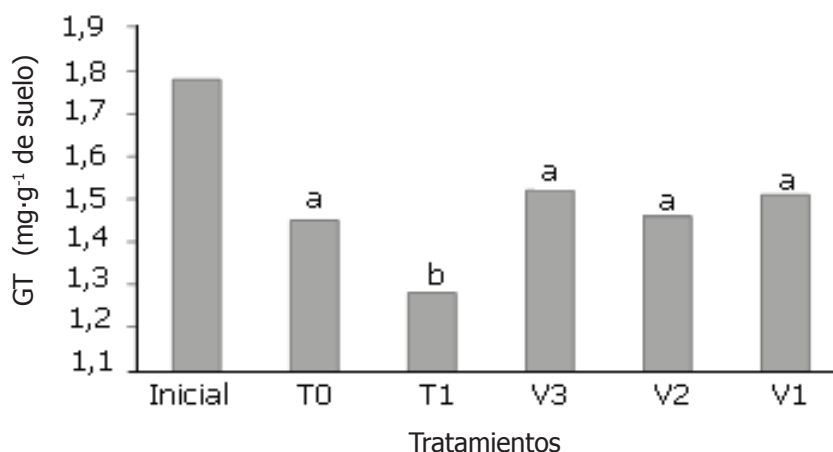
**Glomalina fácilmente extractable (GFE).** Los cambios en esta variable fueron leves, con efecto significativo solamente de la interacción (Figura 7). Entre los 36 y 70 DDS, GFE en V3 disminuyó en 12% y en V1, en 8%. En T0 y T1, para la misma época, esta variable se incrementó en 19%.



**Figura 7.** Efecto de la interacción entre tratamientos y época de muestreo sobre el contenido de glomalina fácilmente extractable del suelo, en el cultivo de maíz blanco SV1127. Coeficiente de variación: 12,7%. (T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza: KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente).

**Glomalina total (GT).** Contrario a los resultados en GFE, GT presentó diferencias significativas entre tratamientos, pero no evidenció efecto de la época de muestreo ni de la interacción entre las dos fuentes de variación. T0, V3, V2 y V1 no difirieron

entre sí, mientras que T1 (100% KCl) generó un efecto negativo significativo con reducción del 12% de GT con respecto a T0. El valor de GT inicial (al caracterizar el suelo), fue alto en comparación con lo obtenido durante el ensayo (Figura 8).



**Figura 8.** Efecto del tratamiento sobre contenido de glomalina total en el suelo. Inicial: promedio de 5 muestras de suelo antes de la siembra; T0, T1, V3, V2 y V1: proporciones de vinaza: KCl, 0:0, 0:100, 50:50, 75:25 y 100:0, respectivamente. Letras diferentes indican diferencia significativa ( $P \leq 0,01$ ).



## DISCUSIÓN

Aparentemente el K es un factor importante en la respuesta de las variables del ME, bajo las condiciones del suelo estudiado, en el cual este elemento presenta un contenido bajo a medio. Sieverding (1991), señala varios estudios que muestran correlaciones positivas entre HMA y K.

Al suplir con vinaza, el MEV se incrementó de 50% (T0) hasta 62% (V3), valores superiores a los encontrados por Sylvia (1988), quien registró incrementos en MEV ligados al desarrollo del cultivo de *Paspalum notatum* inoculado con *Glomus mosseae* o *G. intraradices*. El autor registra cifras que oscilan entre 26% en etapas tempranas y 32% a la décima tercera semana de la siembra.

En GT la fuente de K utilizada cobra importancia, hasta el punto que 100% de KCl deprime considerablemente su contenido en el suelo, lo cual puede afectar el papel de la glomalina sobre la agregación del suelo y su estabilidad (Wright y Upadhyaya, 1996; Sánchez y Velásquez, 2008).

Distintos autores señalan efectos diferentes sobre el desarrollo de los HMA debidos a fuentes de fertilización orgánica o inorgánica (Miller *et al.*, 1995; Kabir *et al.*, 1998; Gryndler *et al.*, 2006). Kabir *et al.* (1998) y Gryndler *et al.* (2006) establecieron que la fertilización inorgánica puede deprimir LME mientras que la orgánica lo incrementa. En la presente investigación, como ya se mencionó, KCl 100% deprimió GT y 100% vinaza incrementó LME.

Gryndler *et al.* (2006) hallaron incrementos en LME con fertilización orgánica y los relacionan con mayor actividad biológica en el suelo. Aumentos en la actividad microbiana del suelo, por adición de vinazas, han sido registrados por Tejada *et al.* (2007); Montenegro (2008) y por Naranjo (2008)<sup>6</sup>. Este último autor estudió la actividad biológica en el suelo dentro de la investigación que dio origen a este escrito.

Navia (2006) encontró valores de LME cercanos a 20 mg·g<sup>-1</sup> de suelo debido al aporte de biomasa vegetal e incrementos en las poblaciones microbianas que

favorecían los HMA, en suelos con fertilidad limitada en cuanto a disponibilidad de P y alto aluminio intercambiable. En este trabajo, los valores de LME fueron menores y variaron entre 6 y 10 mg·g<sup>-1</sup> de suelo, lo cual es explicable dados los altos contenidos de materia orgánica, muy altos de P, Ca y S y medios a bajos en K. Diferentes autores han concluido que en la medida que el P disponible en el suelo se incrementa, LME se reduce (Sánchez *et al.*, 2007).

Mientras que a través de la duración de este experimento se observaron cambios evidentes en la magnitud de LME y MEV, en GFE fueron leves. Oscilaron entre 0,20 – 0,25 mg·g<sup>-1</sup> de suelo. Steinberg y Rillig (2003) en un suelo forestal sembrado con pasto bajo condiciones controladas, en muestreos periódicos durante 150 d, estimaron aproximadamente 2 mg de GFE por g de suelo, con escasas variaciones en su contenido. Morales *et al.* (2005), en un agroecosistema chileno (Ultisol), observaron promedios de 3,74 mg·g<sup>-1</sup> de suelo en el horizonte de 0-10 cm y 3,44 mg·g<sup>-1</sup> de suelo en el horizonte de 10-20 cm.

En Colombia, Muñoz y Ramírez (datos sin publicar) advirtieron contenidos de GFE menores a los encontrados en este ensayo, en un suelo con características de saprolito sembrado con *Brachiaria dictyoneura* Staff e inoculado con diferentes concentraciones de *Glomus aggregatum* Schenck. Con aplicación de 100 g de inóculo micorrizal g<sup>-1</sup> de suelo, la GFE alcanzó cifras cercanas a 0,005, 0,02 y 0,08 mg·g<sup>-1</sup> de suelo, estimados a los 50, 100 y 150 d después de la siembra, respectivamente.

Con respecto a los contenidos de GT en el suelo, los valores oscilaron entre 1,28 y 1,52 mg·g<sup>-1</sup> de suelo, menores a los registrados en otras investigaciones resumidas en la Tabla 5. A diferencia de GFE el contenido de GT fue afectado significativamente por la aplicación de 100% KCl, tratamiento donde se tuvo el menor valor de la variable (1,28 mg·g<sup>-1</sup> de suelo). La mayor presencia de GT en la caracterización inicial puede indicar efectos de disturbar el suelo durante la preparación y aplicación de tratamientos, lo cual es de esperar, según sugieren algunas investigaciones (Tabla 5).

Lovelock *et al.* (2004), señalan que el valor de la GT puede verse afectada por gradientes de fertilidad del suelo. En suelos forestales encontraron que disminuye cuando se incrementa Ca, P, K y Mn. Sucede lo contrario en suelos menos fértiles, caracterizados

<sup>6</sup> Datos sin publicar. Proyecto de grado de Rubén Enrique Naranjo Solano. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Trabajo complementario en esta investigación.

por alta relación C:N y altos niveles de Fe y Al. Argumentan que probablemente estos resultados se deban a diferentes tasas de descomposición de

la glomalina ante gradientes de fertilidad del suelo, incremento en la producción de hifas y/o la presencia de hifas con mayor longevidad.

**Tabla 5.** Contenidos de glomalina total (GT) registrados en otras investigaciones edáficas.

Rango promedio del contenido de GT (mg·g <sup>-1</sup> )	Observaciones	Referencia
4,4 – 14,8	Suelos no disturbados de distintas localidades.	Wright y Upadhyaya (1996)
5 – 7	Suelo forestal. GT declinó un 25% en 150 d.	Steinberg y Rillig (2003)
6,37 – 10,04	Agroecosistema con rotación avena-trigo y lupino-trigo, labranza convencional y cero labranza.	Morales <i>et al.</i> (2005)
5,75 – 7,30	Cero labranza, labranza reducida y labranza convencional con y sin quema de residuos.	Borie <i>et al.</i> (2006)

\* Recopilación por Velásquez, 2009.

Con respecto a la poca o nula variación en contenidos de GFE y GT a través del tiempo, Rillig *et al.*, (2001), mediante el uso de <sup>14</sup>C estimaron que el tiempo de ciclaje de la glomalina podría ser de varios años o décadas, posiblemente entre 6 y 42 años, un tiempo considerablemente mayor que las hifas, el cual puede ser del orden de días o semanas. Por su parte, Wright y Upadhyaya (1996); Wright y Upadhyaya (1998) y Rillig *et al.*, (2001), apuntan que GT lleva implícito un proceso de acumulación en el suelo y se adsorbe fuertemente a sus partículas.

Los resultados obtenidos indicaron la importancia del K en las variables evaluadas, puesto que independiente de la fuente utilizada (KCl o vinaza), en el caso de LME y MEV se incrementaron, pero fue en vinaza 100% donde ocurrió su mayor expresión, señalando la influencia que tiene la materia orgánica sobre estos componentes de los HMA, al constituir no solamente fuente de K, sino también, al estimular los procesos de mineralización mediados por la actividad biológica, cuyos mayores valores también coincidieron con la aplicación de vinaza (Naranjo, 2008). En el caso de glomalina, por el contrario, la fuente de KCl 100% deprimió GT, resultado que también podría aparentemente explicarse por la acción de este nutriente sobre los procesos de mineralización de la materia orgánica del suelo.

### CONCLUSIONES

Los componentes de HMA nativos estimados: LME, MEV, GFE y GT, asociados a plantas de maíz sembradas en un Pachic Haplustoll Valle del Cauca (Colombia), bajo

en K, se afectaron significativamente por la adición de vinazas ó KCl, al igual que por la edad de las plantas.

La vía orgánica favoreció significativamente LME. MEV respondió en forma similar a las adiciones orgánicas o inorgánicas. GT fue afectada negativamente por la fuente inorgánica de K.

Los resultados en los distintos componentes de HMA estudiados señalaron que es posible detectar cambios apreciables en LME y MEV, mientras que los contenidos de GT y GFE varían poco en el tiempo, al tratarse de moléculas muy estables.

### AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo fue posible gracias a la financiación de la Dirección Nacional de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia – DINAIN, dentro del proyecto: "Efecto de vinazas sobre hongos que forman micorriza arbuscular y el fraccionamiento físico de materia orgánica en un suelo del Valle del Cauca". Se agradece la colaboración y asesoría de los grupos de investigación en "Agroecología" y en "Uso y Manejo de Suelos y Aguas con Énfasis en Degradación de Suelos", pertenecientes a la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira.

### BIBLIOGRAFÍA

ASOCAÑA. 2005. Programa de biogasolina, <http://www.minminas.gov.co/minminas/sectores.nsf/2a84e89f4d73f130052567be0052c75a/8d56>

6806de23cd580525705f00432e6d/\$FILE/\_g89kmupr1ednmoqbec5fk2srfcdgq8o8\_.pdf; consulta: julio 2007.

Borie, F., R. Rubio, J. Rouanet, A. Morales, G. Borie and C. Rojas. 2006. Effects of tillage systems on soil characteristics, glomalin and mycorrhizal propagules in a Chilean Ultisol. *Soil and Tillage Research* 88(1-2): 253–261.

Bradford, M. 1976. Bio-rad bradford total protein assay, <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/n dhoc/54450000Glomalin/Bradford%20Total%20Protein%20Assay.pdf> y <http://invam.caf.wvu.BN edu/methods/mycorrhizae/glomalin.htm>; consulta: julio 2007.

Brundrett, M. 2008. Mycorrhizal Associations: The web resource, <http://mycorrhizas.info/vam.html>; consulta: noviembre 2008.

Colombia. Congreso de la República de Colombia. 2001. Ley 693 del 19 de septiembre de 2001. Por la cual se dictan normas sobre el uso de alcoholes carburantes, se crean estímulos para su producción, comercialización y consumo, y se dictan otras disposiciones. Bogotá, D.C.

Douds, D. and N. Collins. 2007. Contributions of arbuscular mycorrhizas to soil biological fertility. pp. 129-162. In: L.K. Abbott y D.V. Murphy (eds). *Soil biological fertility: a key to sustainable land use in agriculture*. Dordrecht, The Netherlands. 264 p.

Ferrol, N., J. Barea y C. Azcón. 2002. Mechanisms of nutrient transport across interfaces in arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil* 244(1-2): 231–237.

García, A. y A. Rojas. 2006. Posibilidades de uso de la vinaza en la agricultura de acuerdo con su modo de acción en los suelos. *Tecnicaña* 10(17): 3-13.

Gnecco, J.G. 2004. Procesos de producción de vinaza en alcohol carburante. En: *Memorias. Encuentro sobre vinazas, potasio y elementos menores para una agricultura sostenible*. Corpoica, Palmira, Colombia. 233 p.

Gobernación del Valle del Cauca, Colombia. Información general: ubicación geográfica. <http://www.valledelcauca.gov.co/publicaciones.php?id=41>; consulta: septiembre 2008.

Gryndler, M., J. Larsen, H. Hřselová, V. Řezáčová, H. Gryndlerová and J. Kubát. 2006. Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment. *Mycorrhiza* 16(3): 159–166.

Hamel, C., H. Fyles and D. Smith. 1990. Measurement of development of endomycorrhizal mycelium using there different vital stain. *New Phytologist* 115: 297-302.

Higuera, C., R. Tristancho y G. Flórez. 2007. Bio-combustibles y su aplicación en Colombia. *Scientia et técnica*, año XIII, No 34. Universidad tecnológica de Pereira, <http://www.utp.edu.co/php/revistas/Scientia EtTechnica/docsFTP/83310171-175.pdf>; consulta: agosto 2008.

Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. 1992. Fertilización en diversos cultivos, quinta aproximación. ICA, Bogotá. 64 p. (Manual de Asistencia Técnica No 25).

Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC. 2007. *Climate change 2007: The Physical Science Basis*, [http://ipcc-wg1.ucar.edu/wg1/docs/WG1AR4\\_SPM\\_PlenaryApproved.pdf](http://ipcc-wg1.ucar.edu/wg1/docs/WG1AR4_SPM_PlenaryApproved.pdf); consulta: noviembre 2008.

Jaramillo, D.F. 2002. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. 613 p.

Johnson, N.C. and C.A. Gehring. 2007. Chapter 4: Mycorrhizas: symbiotic mediators of rhizosphere and ecosystem processes. pp. 73–100. In: Z. Cardon, J. Whitbeck and J. Whitbeck (eds.). *The rhizosphere: An ecological perspective*. Elsevier Academic Press, California. 201 p.

Kabir Z., I. O'Halloran, J. Fyles and C. Hamel. 1998. Dynamics of the mycorrhizal symbiosis of corn (*Zea mays* L.): effects of host physiology, tillage practice and fertilization on spatial distribution of extra-radical mycorrhizal hyphae in the field. *Agriculture Ecosystems Environment* 68(1-2): 151–163.

Korndörfer, G.H., A. Nolla, A.R. Waldo y L. Cabezas. 2004. Impacto ambiental del uso de la vinaza en la agricultura y su influencia en las características químicas y físicas del suelo. pp. 2-11. En: *Memorias. Encuentro Sobre Vinazas, Potasio y Elementos Menores para una Agricultura Sostenible*. CORPOICA, Palmira.

- Lotero, M.L.O. 2006. Efecto de la aplicación de vinaza y bovinaza sobre algunas propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo en el establecimiento y producción inicial de forraje de maralfalfa (*Pennisetum* sp) en suelos del municipio de Popayán, Cauca. Tesis Magíster en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 104 p.
- Lovelock, C., S. Wright, D. Clark and R. Ruess. 2004. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology* 92: 278-287.
- Mancheno, J.G. 2006. Situación de la producción de etanol en Colombia. En: [http://clayuca.org/training/pdf/060315\\_escenarios\\_de\\_produccion\\_de\\_etanol\\_en\\_colombia.pdf](http://clayuca.org/training/pdf/060315_escenarios_de_produccion_de_etanol_en_colombia.pdf); consulta: julio 2007.
- Miller, M.H., McGonigle, T.P. and H.D. Addy. 1995. Functional ecology of vesicular arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem. *Critical Reviews in Biotechnology* 15 (3-4): 241-255.
- Minambiente. 2007. Panorama de biocombustibles a nivel global: experiencia de Colombia. Biocombustibles como energía alternativa: una mirada hacia la región. Quito, 16 de octubre de 2007, <http://www.ceda.org.ec/descargas/ForoBio/2%20PANEL/Claudia%20Mora.pdf>; consulta: agosto 2008.
- Montenegro, S.P. 2008. Influencia de la aplicación de vinaza sobre la presencia, actividad y biomasa microbiana del suelo en el cultivo de maíz dulce (*Zea mays* L.). Tesis Magíster en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 148 p.
- Morales, A., Castillo, C. Rubio, R. Godoy, R.J. Rouanet, y F. Borie. 2005. Niveles de glomalina en suelos de dos ecosistemas del sur de Chile. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 5 (1): 37-45, <http://mingaonline.uach.cl/pdf/rcsuelo/v5n1/art06.pdf>; consulta: agosto 2008.
- Muñoz, O.A. y R. Ramírez. (datos sin publicar). Glomalina como indicador de colonización micorrizal y su efecto sobre la agregación de suelos degradados. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.
- Narváez, M. 2008. Evaluación de actividad de fosfatasa y deshidrogenasa por efecto de la aplicación de vinazas en suelos cultivados con maíz dulce *Zea mays* L. Tesis Magíster en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 124 p.
- Navia, J. 2006. Impacto de aportes superficiales de biomasa vegetal de diferente calidad sobre poblaciones nativas de hongos formadores de micorriza arbuscular, HMA, rizobios y nemátodos, en un suelo agrícola de Santander de Quilichao, departamento del Cauca. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 136 p.
- Quintero, R., S.F. Cadena y C.O. Briceño. 2006. Proyectos de investigación sobre uso y manejo de vinazas, <http://www.cengican.org/PortalSubOtrasAreas/Etanol/Presentaciones/ProyectosInvestigacionSobreUsoManejo%20Vinaza.pdf>; consulta: mayo 2008.
- Reyes, J. 2001. Micelio externo de hongos micorrícicos arbusculares y su potencial influencia en la recuperación de suelos degradados de ladera del Cauca. Tesis Magíster en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 77 p.
- Rillig, M., S. Wright, K. Nichols, W. Schmidt and M. Torn. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil* 233: 167-177.
- Rillig, M.C. and D.L. Mummey. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171(1): 41-53.
- Rodríguez, M., M. Chaves y F. Mojica. 1999. Estudio del efecto químico valorado a nivel de laboratorio de la aplicación de seis dosis crecientes de vinazas en cuatro profundidades, en dos tipos de suelo: Dystric haplustand y Ustic hunitropept, [http://www.mag.go.cr/congreso\\_agronomico\\_XI/a50-6907-III\\_076.pdf](http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_XI/a50-6907-III_076.pdf); consulta: julio 2008.
- Sánchez, M. 2003. Actividad biológica en la rizósfera del maracuyá – *Pasiflora edulis* var *Flavicarpa* – en diferentes sistemas de manejo, estados de desarrollo y condiciones fitosanitarias. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. España. 261 p.
- Sánchez, M., E. Gómez, J.E. Muñoz, E. Barrios, M. Prager, O. Bravo, M. El-Sharwaki, J. Pérez, N. Asakawa, F. Marmolejo, L. Cadavid, R. Quintero, J. Miranda, C. Mier, R. Torres, J. Reyes, C. Zapata, R. Tofiño, C. Benjumea, G. Díaz, L. Trujillo, F. Bonilla, J. Espinosa,

- H. Rodríguez, H. García, W. Triana, C. Carlosama y N. Vargas. 2007. Las endomicorrizas, expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Universidad Nacional de Colombia, Editorial Feriva, Palmira. 351 p.
- Sánchez, M. y D.C. Velásquez. 2008. Las micorrizas: el micelio externo de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA). Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 15 p. (Cuadernos Ambientales No 12).
- Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agroecosystems. GTZ - Technical Cooperation, Federal Republic of Germany, Eschborn. 371 p.
- Steinberg, P.D. and M.C. Rillig. 2003. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalina. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 191-194.
- Sylvia, D.M. 1988. Activity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 20(1): 39-43.
- Tejada, M., J. Moreno, M. Hernández and C. García. 2007. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 119(3-4): 289-298.
- Tenorio, Z., O. Carvalho, O. Ferreira, J. Gascó y F. Guerrero. 2000. Estudio de la actividad biológica de dos suelos de los tableros costeros del NE de Brasil enmendados con residuos agrícolas: vinaza y torta de caña de azúcar. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 4(1): 70-74.
- Torres, L. 2000. El papel del micelio externo de hongos que forman micorriza arbuscular asociado a barbechos mejorados en suelos degradados de ladera de Pescador, Cauca. Tesis Magíster en Ciencias Agrarias. Facultad Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 89 p.
- Wright, S. and A. Upadhyaya. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science* 161(9): 575-586.
- Wright, S.F. and A. Upadhyaya. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198: 97-107.
- Zuñiga, B., M. Durán y R. Lozano. 2000. Cambios químicos en el suelo por aplicación de materia orgánica soluble tipo vinazas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 16 (003): 89-101, <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=37016301>; consulta: mayo 2008.