

EFECTO DE LA INCORPORACIÓN DEL BIOFERTILIZANTE AZOTOFOS EN EL POTENCIAL BIOLÓGICO DE DOS SUSTRATOS EMPLEADOS PARA LA PRODUCCIÓN DE CÍTRICOS EN TRUJILLO, VENEZUELA

EFFECT OF THE ADDITION OF THE AZOTOFOS FERTILIZER ON THE BIOLOGICAL POTENTIAL OF TWO SUBSTRATES USED FOR THE PRODUCTION OF CITRUS FRUITS IN TRUJILLO, VENEZUELA

Matheus, Jesús^{*(1)}; Santos-Osechas, Javier^{** (2)}; Briceño, Glenda^{*** (1)}; Simancas Darwin^{**** (1)}; Montilla Leidimar^{***** (1)}

⁽¹⁾ Universidad de los Andes, Núcleo Universitario “Rafael Rangel”, estado Trujillo, Venezuela./ ⁽²⁾ Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), estado Trujillo, Venezuela.

Resumen

Se evaluó el efecto de la incorporación de Azotofos (bacterias fijadoras de nitrógeno (*Azotobacter spp*) y solubilizadoras de fósforo (*Bacillus megaterium*)) en el potencial biológico de dos sustratos empleados para la producción de cítricos en viveros mediante la determinación de la respiración basal y la biomasa microbiana. Se establecieron dos bioensayos que constaron de ocho tratamientos y cuatro réplicas cada uno, distribuidos bajo un modelo estadístico completamente aleatorizado. Cada sustrato fue inoculado con Azotofos en concentraciones de 1, 10, 15, 20 y 30%, se compararon con dos testigos (uno con fertilización química y otro solo sustrato) además de un blanco de calibración; en los tratamientos con biofertilizante sólo se aplicó 1/3 del nitrógeno y del fósforo que se utiliza para cítricos en vivero. Los resultados mostraron que al aumentar las concentraciones de Azotofos la actividad microbiana incrementa proporcionalmente ($P \leq 0.05$); con la concentración de 30 % siempre se obtuvo el mayor valor de actividad biológica en ambos sustratos con diferencias sobre el resto de los tratamientos. Igualmente, se observó que el sustrato 2 siempre tuvo una mayor actividad biológica que el sustrato 1 debido a su mayor contenido de nutrientes y particularmente de materia orgánica (fuente de energía), aspectos estos, relacionados con el incremento de la actividad biológica. Los resultados evidencian que cuando se incorporan microorganismos al medio y logran establecerse, incrementa el potencial biológico como consecuencia de una mayor población y los procesos metabólicos propios de los microorganismos en el cumplimiento de sus funciones en el suelo.

Palabras clave: biofertilizantes, Azotofos, actividad biológica, sustratos

Abstract

Evaluated the effect of the incorporation of Azotofos (nitrogen-fixing bacteria (*Azotobacter spp.*) and phosphorus solubilizers (*Bacillus megaterium*)) on the biological potential of two substrates used for the production of citrus fruits in nurseries through the determination of basal respiration and microbial biomass. Be established two bioassays that consisted of eight treatments and four replicas each one, distributed under a model statistical completely randomized. Each substrate was inoculated with Azotofos at concentrations of 1, 10, 15, 20 and 30%, compared with two witnesses (one with chemical fertilization and other single substrate) as well as a target for calibration; in the treatments with biofertilizer only is applied 1/3 of the nitrogen and of the phosphorus that is used for citrus in nursery. The results showed that increasing concentrations of Azotofos microbial activity increases proportionally ($P \leq 0.05$); with the concentration of 30% always is obtained the higher value of activity biological in both substrates with differences on the rest of the treatments. Also, noted that substrate 2 always had the substrate 1 increased biological activity due to their higher content of nutrients and organic matter (energy supply), particularly aspects these, related to the increase in biological activity. The results evident that when is incorporate microorganisms to the half and manage to establish is, increases the potential biological as consequence of a greater population and them processes metabolic own of them microorganisms in the compliance of their functions in the soil.

Key words: biofertilizers, Azotofos, biological activity, substrates

Recibido: 30/03/2017 - **Aprobado:** 11/10/2017

Introducción.

La fertilidad del suelo, un sustrato o medio de cultivo, es la aptitud para suministrar de manera adecuada y oportuna las condiciones químicas, físicas y biológicas necesarias para el completo desarrollo y expresión genética de las plantas u organismos que en él se desarrollen. En general el manejo de la fertilidad de los suelos y sustratos se ha centrado en los aspectos químicos y físicos sin considerar, que muchas veces la solución a los problemas de la fertilidad depende del grado de actividad biológica que tenga el suelo.

Las características biológicas del suelo o sustrato están definidas por la biodiversidad edáfica representada por la variedad de organismos vivos que en él habitan, la interacción entre ellos y su interrelación con los demás componentes del medio edafológico como las plantas, formando un sistema complejo, heterogéneo y dinámico de relaciones biológicas (Acuña, 2006).

Los organismos del suelo aportan numerosos beneficios para la sostenibilidad de los agroecosistemas. Reciclan nutrientes, regulan la transformación de la materia orgánica, la retención del carbono y emisión de gases de efecto invernadero, modifican la estructura del suelo y la dinámica de retención y disponibilidad de agua; además, participan en la fijación y solubilización de nutrimentos, mejorando la eficacia de la absorción de nutrientes de la vegetación. Estos aspectos no sólo son determinantes para el funcionamiento de los ecosistemas naturales, sino que constituyen un importante recurso para la gestión sostenible de los sistemas agrícolas (Cotler y col., 2016).

Actualmente se plantea una agricultura sustentable que se fundamente en la búsqueda de opciones de manejo que contribuyan a desarrollar sistemas de producción en

armonía con el ambiente, más sanos, que implementen tecnologías y prácticas de bajo impacto ambiental (López y Llorente, 2011).

Dentro de este contexto, la agroecología plantea un conjunto de prácticas de manejo ecológico del suelo orientadas a reducir el uso de insumos, la inversión y los costos, mediante la sustitución progresiva de los productos agroquímicos (fertilizantes químicos sintéticos) por otros insumos alternativos u orgánicos (Atieri y Nicholls, 2007). Estas prácticas van orientadas a fortalecer la eficiencia de los recursos internos como la biota, la biodiversidad edáfica, el manejo integrado de competidores bióticos y la rentabilidad económica (Martínez y col., 2008).

Bajo esas premisas, la incorporación del uso de biofertilizantes en los esquemas para el manejo de la fertilidad en agroecosistemas constituye una práctica agroecológica. Los biofertilizantes, conocidos como bioinoculantes, inoculantes microbianos o inoculantes del suelo, son productos agrobiotecnológicos que contienen microorganismos vivos o latentes (bacterias u hongos, solos o combinados) y que son agregados a los cultivos para estimular su crecimiento y productividad (Aguado-Santacruz, 2012).

Armenta-Bojórquez y col. (2010), los definen como productos a base de células vivas de microorganismos que hacen vida en forma natural en el medio edáfico, que son aislados, concentrados e inoculados artificialmente en los suelos incrementando su población y que son capaces de hacer disponibles nutrientes y suministrar sustancias promotoras del crecimiento.

Mediante los avances de la biotecnología se han desarrollado los protocolos, procedimientos y técnicas para la elaboración de un conjunto de insumos biológicos, entre ellos, los biofertilizantes

que actualmente se producen en Venezuela por la Red de Laboratorios de Bioinsumos del Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral (INSAI), el Instituto de Investigaciones Agrícolas (IVIC), algunas Universidades y empresas privadas, entre otros.

Uno de estos productos es el Azotofos que contiene bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre y las solubilizadoras de fósforo que pueden contribuir significativamente a suministrar nitrógeno y fósforo a cultivos. Estos bioinsumos representan una opción para complementar con fuentes orgánicas e inorgánicas, que promuevan la sustentabilidad de los agroecosistemas y mitiguen el impacto que ellos pueden ejercer sobre el entorno biofísico (Alfonzo y col., 2015).

Diversos trabajos de investigación se han realizado en los cuales se ha evidenciado el efecto benéfico de los biofertilizantes en rubros como tomate (Morales y col., 2009; Escobar y col., 2011.), cítricos (González-Mancilla y col., 2013), ají dulce y parchita (Matheus y col., 2014; Matheus y col., 2015; Simancas y col., 2015). Otros investigadores con una amplia trayectoria en el uso de bioinsumos como Restrepo-Franco y col. (2015) y Armenta-Bojórquez y col. (2010), documentan ampliamente los beneficios de su uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica en Colombia y México respectivamente.

En otros trabajos de investigación como los realizados por Armado y col., (2009), Guerrero-Ortiz y col., (2012), González-Mancilla y col., (2013) y Paolini (2015), se ha evaluado la eficiencia del uso de los microorganismos del suelo (entre ellos las bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo) por su efecto en las propiedades biológicas de los suelos.

Entre los atributos del suelo que pueden ser indicadores de su potencial biológico

se encuentran: cantidad y diversidad de la población de hongos y bacterias, la respiración microbiana, el carbono de la biomasa microbiana y el cociente metabólico; Guerrero-Ortiz y col., (2012), señalan que existe una relación muy estrecha entre la actividad biológica de un suelo y su fertilidad por lo que parámetros vinculados a la primera han sido propuestos como indicadores de su potencial biológico.

La respiración microbiana (respiración del suelo) es definida como el consumo de oxígeno o el desprendimiento de CO₂ por la biota edáfica como resultado de la degradación de la materia orgánica. Este parámetro está correlacionado con la actividad biológica del suelo y por ende con la biomasa microbiana que representa la parte viva de la materia orgánica y cuantifica la población total de los microorganismos presentes en el suelo (Paolini, 2015); la medición de CO₂ constituye un método para determinar la actividad microbiana del suelo.

Rivero y col., (2016), señalan que la actividad microbiana determinada a través de los indicadores biológicos constituyen una medida integrada de la calidad de los suelos, puesto que se encuentra relacionada directamente con la función de los microorganismos y demostraron que los parámetros respiración basal, biomasa microbiana y el cociente metabólico (qCO₂) constituyen indicadores eficientes para determinar el potencial biológico de los suelos bajo distintos sistemas de manejo.

Con base en las consideraciones anteriores, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la incorporación del biofertilizante azotofos en el potencial biológico de dos sustratos empleados en viveros para la producción de cítricos en el estado Trujillo.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación de Suelos del Núcleo “Rafael Rangel” de la Universidad de Los Andes, ubicado en la Villa Universitaria del municipio Pampanito del estado Trujillo. Siguiendo la metodología de Vandevivere y Ramírez (1995), se realizaron dos bioensayos de laboratorio en el que se evaluó la respuesta de dos sustratos a la inoculación con biofertilizante, uno de ellos identificado como **sustrato 1** que es el utilizado en los viveros de cítricos en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Trujillo) elaborado con cachaza, suelo y arena gris en proporciones 1:1:1. El otro, identificado como **sustrato 2** elaborado con compost, suelo y arena gris en proporciones 1:1:1 que es el utilizado para la realización de viveros en la Unidad de Producción Integral (UPI) del Núcleo Universitario “Rafael Rangel” de la ULA-Trujillo. Estos sustratos fueron debidamente caracterizados en el Laboratorio de Suelos del Centro de Investigaciones Agropecuarias del Instituto de Investigaciones Agrícolas del estado Táchira (Cuadro 1).

El biofertilizante empleado en el ensayo fue Azotofos, que es un producto cuyos “ingredientes activos” son bacterias del género *Azotobacter spp* (fijadoras de nitrógeno) y *Bacillus megaterium* (solubilizadores de fósforo) con una composición equivalente igual o mayor a 1×10^9 ufc/ml, formulado y elaborado por la Red Nacional de Laboratorios Bolívar Conservacionista, adscrita al Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral.

Se establecieron dos bioensayos que constaron de ocho tratamientos y cuatro réplicas cada uno, distribuidos bajo un modelo estadístico completamente aleatorizado. Los tratamientos fueron:

- T0: testigo (Blanco de calibración)
- T1: sustrato + químico
- T2: sustrato + químico + Azotofos 1 %
- T3: sustrato + químico + Azotofos 10 %
- T4: sustrato + químico + Azotofos 15 %
- T5: sustrato + químico + Azotofos 20 %
- T6: sustrato + químico + Azotofos 30 %
- T7: sustrato solo

Cuadro 1. Caracterización de los sustratos empleados

Parámetros	Sustrato 1		Sustrato 2	
% de Arena	86		78	
% de Limo	8		8	
% de Arcilla	6		14	
Clase Textural	aF		aF	
Fósforo (ppm)	76		95	
Potasio (ppm)	677		698	
Calcio (ppm)	1379	A	1630	A
Magnesio (ppm)	214	MA	341	MA
% de Materia orgánica	2,51	A	3,16	A
pH 1: 2.5 en agua	6,7	A	7,6	A
Conductancia eléctrica (dS m ⁻¹)	0,21	M	0,33	A
Cobre (ppm)	2	N	<1	La
Hierro	47	B	15	B
Zinc	15		10	
Manganeso	45		48	

Notas explicativas: aF: areno franco; Ma: medianamente ácido; B: bajo; M: medio; A: alto y MA: muy alto; N: neutro; La: ligeramente alcalino

En los tratamientos aplicados se utilizó un testigo absoluto sin sustrato que corresponde al blanco de calibración (T0), un tratamiento con sustrato + fertilización química (T1) y un tratamiento solo con sustrato (T7), que sirven como referenciales para comparar el efecto de la aplicación de concentraciones crecientes del biofertilizante (T2, T3, T4, T5 y T6); el tratamiento con fertilización química corresponde a la aplicación de N-P-K que se utiliza normalmente para cítricos en etapa de vivero); si embargo, en los tratamientos con biofertilizante sólo se aplicó 1/3 del nitrógeno y del fósforo (P) que se utiliza para cítricos en esta etapa (Avilán y col. 1992).

Las concentraciones del inóculo se definieron tomando como referencia las recomendaciones del Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral, así como los resultados de investigaciones anteriores realizadas en el Núcleo "Rafael Rangel"-ULA (Lozada y Rivas, 2010; Matheus y col., 2014; Matheus y col., 2015; Simancas y col., 2015) y también trabajos realizados en Cuba (Morales y col., 2009).

La respuesta a la aplicación de los tratamientos se evaluó a través de la actividad biológica mediante la determinación de la respiración basal (mg C-CO₂/kg día) por el método de la trampa de álcali (Anderson, 1982) y la biomasa microbiana (mg C_{mic}/kg suelo) (Anderson y Domsch, 1979; Beck y col., 1995).

La determinación de la respiración basal se realizó según la metodología propuesta por Anderson (1982), mediante la utilización de una trampa de álcali para lo cual se utilizaron 36 envases de vidrio de 500 cm³ (unidades experimentales); en ellos, se colocaron 100 cm³ de sustrato y se ajustó la humedad hasta ¼ de la capacidad máxima de la retención de humedad. Se

agregaron los respectivos tratamientos y en cada unidad experimental se colocó un recipiente con 20ml NaOH 0.5 M, se cerró herméticamente y se incubó en oscuridad a temperatura ambiente durante 72 horas. Transcurrido este tiempo se recuperó el NaOH 0.5 M y se trasvasó a una fiola de titulación, se colocaron 2 ml de BaCl₂ 0.5 M y 2 gotas del indicador fenolftaleína para finalmente titular con HCL 0.5 M.

La cantidad de CO₂ liberado se calculó mediante la fórmula:

$$\text{mg C-CO}_2 = (V_B - V_M) \times 6 \times N_{\text{HCl}}$$

Donde

V_B = Cantidad de HCl gastado para valorar el blanco (T0)

V_M = Cantidad de HCl gastado para valorar cada muestra del sustrato

6 = Peso equivalente del carbono

N_{HCL} = Normalidad del ácido clorhídrico.

Los resultados se expresaron en mg C-CO₂ /kg día.

La biomasa microbiana se determinó por el método de respiración inducida por sustrato (Anderson y Domsch, 1979; Beck y col., 1995) y se usaron las mismas unidades experimentales empleadas para la determinación de la respiración basal, a las cuales se le añadió 1 g glucosa, se incubaron nuevamente durante 24 horas y el CO₂ liberado se estimó por el mismo método descrito anteriormente. Se usó el factor de conversión propuesto por Beck y col. (1995) para el cálculo de la biomasa microbiana:

$$1 \text{ mg C-CO}_2/100 \text{ gss h} = 20,6 \text{ mg C} /100\text{gss} \text{ y fue expresada en miligramos de carbono microbiano por kilogramo de suelo (mg C}_{\text{mic}}/\text{Kg de suelo}).$$

Una vez obtenidos los resultados de los distintos ensayos se procedió a realizar los respectivos análisis de varianza y separación de medias a través de la prueba

de Duncan y el uso del paquete estadístico InfoStat (versión libre, 2011) con el fin de interpretar los resultados en función de los objetivos propuestos. Igualmente, con los datos obtenidos de la variable respiración basal se determinó el Índice de Efectividad de la Inoculación (IEI) que mide de forma porcentual, la efectividad de los tratamientos inoculados con respecto al tratamiento testigo según la siguiente ecuación (Escobar y col., 2011):

$$IEI = \frac{\text{tratamiento con inoculación} - \text{control sin inoculación}}{\text{control sin inoculación}} \times 100$$

Resultados y discusión

En los valores que muestran los cuadros 2 y 3 sobre la respiración basal y la biomasa microbiana respectivamente, en ambos sustratos se observan diferencias ($p > 0,05$) entre los tratamientos inoculados con Azotofos en diferentes concentraciones y aquellos con fertilización química (T1) y solo sustrato (T7) que fueron los que dieron la menor respuesta en cuanto a la producción de CO_2 y cantidad de biomasa y se agrupan estadísticamente como los tratamientos de menor respuesta en las variables evaluadas.

Con ello, se evidencia que cuando se incorporaron las bacterias al sustrato empleado se incrementó la actividad biológica como consecuencia del establecimiento y colonizaron del medio y los procesos metabólicos propios de estos microorganismos en el cumplimiento de sus funciones en el suelo.

Al respecto, Aguilera y col., (2010) encontraron que la actividad de respiración microbiana en suelos presentó un incremento significativo con la incorporación de bioinsumos y la consecuente colonización del medio, como resultado de la proliferación de microorganismos en cantidad y diversidad.

Igualmente, Acuña y col., (2006) indican que la liberación de CO_2 desprendido se debe fundamentalmente a la actividad biológica y al contenido de carbono orgánico fácilmente degradable en el medio lo cual, teóricamente representa una medición integrada de la respiración de raíces, respiración de la fauna del suelo y la mineralización del carbono desde las diferentes fracciones de la materia orgánica. En el ensayo realizado, ante la ausencia de plantas en el medio, la liberación de CO_2 es consecuencia de la respiración de los

Cuadro 2. Resultados de la respiración basal ($mg\ C-CO_2/kg\ día$) obtenidos en cada uno de los tratamientos en los dos sustratos evaluados

Tratamientos	Sustrato 1 ($mg\ C-CO_2/kg\ día$)	Sustrato 2 ($mg\ C-CO_2/kg\ día$)
T1: sustrato + químico	18,91 c	19,65 de
T2: sustrato + químico + Azotofos 1 %	21,84 c	20,81 d
T3: sustrato + químico + Azotofos 10 %	28,58 b	55,05 c
T4 sustrato + químico + Azotofos 15 %	28,87 b	60,97 bc
T5: sustrato + químico + Azotofos 20 %	32,39 b	63,02 b
T6: sustrato + químico + Azotofos 30 %	38,84 a	74,74 a
T7: sustrato solo	12,75 d	12,90 e

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cuadro 3. Resultados de la biomasa microbiana expresados en (mg C_{mic}/kg de suelo) obtenidos en los dos sustratos evaluados

Tratamientos	Sustrato 1 (mg C _{mic} /kg de suelo)	Sustrato 2 (mg C _{mic} /kg de suelo)
T1: sustrato + químico	362,70 c	400,40 cd
T2: sustrato + químico + Azotofos 1%	402,26 b	400,94 cd
T3: sustrato + químico + Azotofos 10%	408,74 ab	402,74 c
T4 sustrato + químico + Azotofos 15%	413,26 ab	417,25 c
T5: sustrato + químico + Azotofos 20%	430,25 a	435,49 b
T6: sustrato + químico + Azotofos 30%	435,41 a	453,26 a
T7: sustrato solo	279,33 d	389,55 d

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

microorganismos “nativos” e inoculados que colonizaron el medio y la mineralización del carbono orgánico presente en el sustrato.

Con relación a este aspecto, Vásquez y col., (2013) y Acuña (2003), señalan que la cantidad de CO₂ liberado, no solo está asociada a los procesos metabólicos y descomposición de los materiales orgánicos (fracción lábil) y de la resíntesis de sustancias, sino que depende además de la población y diversidad de microorganismos activos en el medio, es decir, que la cantidad de dióxido de carbono liberado y medido en el suelo no solo estima la actividad microbiana, sino que además es un indicador de la presencia y diversidad biológica.

En este sentido, puede observarse que los valores obtenidos (cuadros 2 y 3) muestran tendencias similares en el comportamiento de las variables respiración basal y biomasa microbiana en ambos sustratos, determinándose un coeficiente de correlación positivo y significativo entre las variables mencionadas para el sustrato 1 de $r = 0,81$ $P (\leq 0,01)$ y en el sustrato 2 de $r = 0,80$ ($P \leq 0,01$) como se grafica en las figuras 1 y 2 (pág. siguiente).

En este caso, los resultados de biomasa microbiana obtenidos se corresponden con

los de la respiración basal lo cual indica que hay una mayor actividad biológica en aquellos suelos o sustratos con una mayor biomasa microbiana. Resultados similares fueron reportados por Sánchez y col., (2005) en estudios realizados sobre la interacción materia orgánica y actividad biológica en la cuenca del río Maracay, en el estado Aragua quienes encontraron un coeficiente de correlación de 0,91 ($P \leq 0,01$).

Al comparar los tratamientos inoculados en ambos sustratos (cuadro 2), se observa que al aumentar las concentraciones de Azotofos la actividad microbiana se incrementa de forma proporcional siendo estas diferencias significativas ($P \leq 0,05$). Cuando se inoculó con una concentración de 30 % de Azotofos siempre se obtuvo el mayor valor de actividad biológica en los dos sustratos evaluados con diferencias sobre el resto de los tratamientos.

Los tratamientos en los cuales se aplicaron concentraciones bajas del biofertilizante 1 y 10 % mostraron un comportamiento bastante similar al tratamiento con fertilizante químico del cual no difieren estadísticamente. Iguales tendencias se observan en trabajos de investigación cuando se incorporaron diferentes dosis de *Azotobacter spp* en los

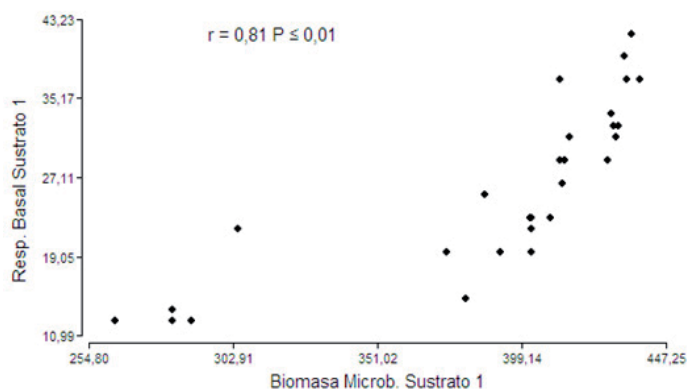


Figura 1. Correlación entre la respiración basal y biomasa microbiana en el sustrato 1.

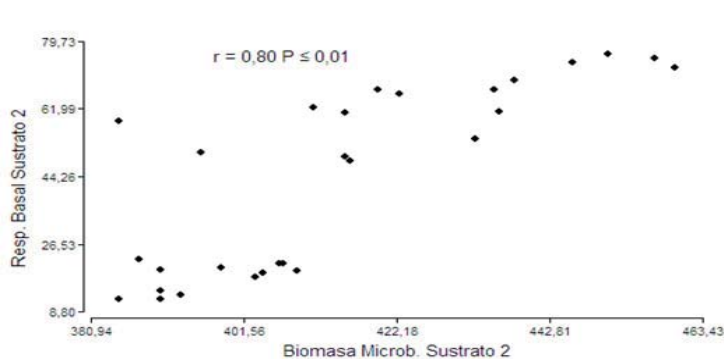


Figura 2. Correlación entre la respiración basal y biomasa microbiana en el sustrato 2.

cuales se reportan las mejores respuestas con concentraciones de 20% en plantas de parchita y ají dulce (Matheus y col., 2015) y de 30 % (*Azotobacter chroococcum*) en plantas de tomate demostrándose su efecto biofertilizante y bioestimulante (Alarcón y col., 2009) así como, en la germinación y el desarrollo de la raíz en ají dulce (Canto y col., 2004).

Al observar el efecto de las concentraciones evaluadas en este trabajo, el resultado indica que ocurrió más producción y liberación de CO₂ como consecuencia del establecimiento de una mayor población microbiana activa con la incorporación del producto en concentraciones de 30 y 20% para ambos sustratos evaluados.

En este caso, los resultados permiten afirmar que los microorganismos inoculados encontraron condiciones favorables para establecerse en ambos sustratos puesto que son elaborados con una mezcla de suelo, arena y material orgánico **en proporciones 1:1:1** que no solo garantiza un adecuado espacio poroso que regula la dinámica de la aireación y retención de humedad, sino que además aporta los elementos necesarios para la nutrición de los microorganismos (cuadro 1).

A respecto, Restrepo y col., (2015), Reyes y col., (2008) y Tejera y col., (2005), quienes indican que el establecimiento y colonización de los microorganismos en el medio está condicionado por composición y las características de pH, la

salinidad, temperatura y humedad, y muy particularmente por la disponibilidad de fuentes de carbono, fósforo, microelementos y relación C/N del medio.

Es importante señalar que en este trabajo, a pesar de que ambos sustratos se elaboraron con materiales en proporciones similares, la procedencia del suelo empleado y el tipo de material orgánico usado fueron distintos lo cual explica las diferencias en la composición de ambos (cuadro 1)

Al comparar el comportamiento de los dos sustratos, en las figuras 3 y 4 se muestran gráficamente las diferencias en la respuesta de los sustratos evaluados a la aplicación de los tratamientos. En las variables determinadas, se observa que el sustrato 2 siempre tuvo una mayor actividad biológica que el sustrato 1; esta diferencia entre sustratos es **más** acentuada para la variable respiración basal (figura 3), lo que sugiere que la respuesta obtenida fue producto principalmente del aumento de la respiración basal (actividad biológica) y no del incremento poblacional de las bacterias en el medio (biomasa microbiana).

Los valores de respiración basal variaron entre 12,75 y 38,84 mg C-CO₂/kg día

en el sustrato 1 y 12,90 a 74,74 mg C-CO₂/kg día en el sustrato 2 (cuadro 2). Estos valores en general se encuentran cercanos a los rangos obtenidos por Sánchez y col., (2005) (13,68 a 98,64 mg C-CO₂/kg día) y Paolini (2015) (35,8 a 110,7 mg C-CO₂/kg día) en suelos con distintos contenidos de materia orgánica, pero inferiores a los reportados por López y col., (2014) al evaluar 38 suelos y 128 sustratos en Argentina, quienes señalan que las diferencias encontradas entre los sustratos fueron consecuencia de las características de los materiales empleados en su elaboración, pero fundamentalmente del contenido y calidad de la materia orgánica.

La evolución del CO₂ es un parámetro estrechamente vinculado a la dinámica de los materiales orgánicos en el medio y representa una medición integral de la tasa de respiración del suelo a partir de la mineralización del carbono de diferentes fuentes, es decir, representa la estimación de la actividad microbiana (Paolini, 2015).

Basado en los aspectos señalados, en el trabajo realizado las diferencias encontradas entre los dos sustratos evaluados se explican como consecuencia de las características de

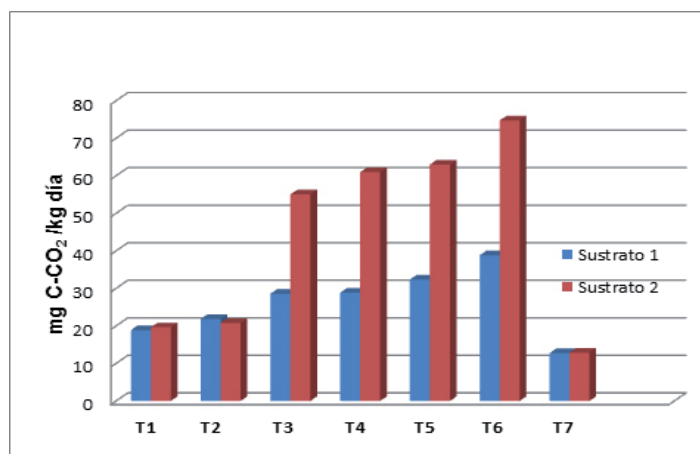


Figura 3. Valores de respiración basal en cada tratamiento en los sustratos evaluados

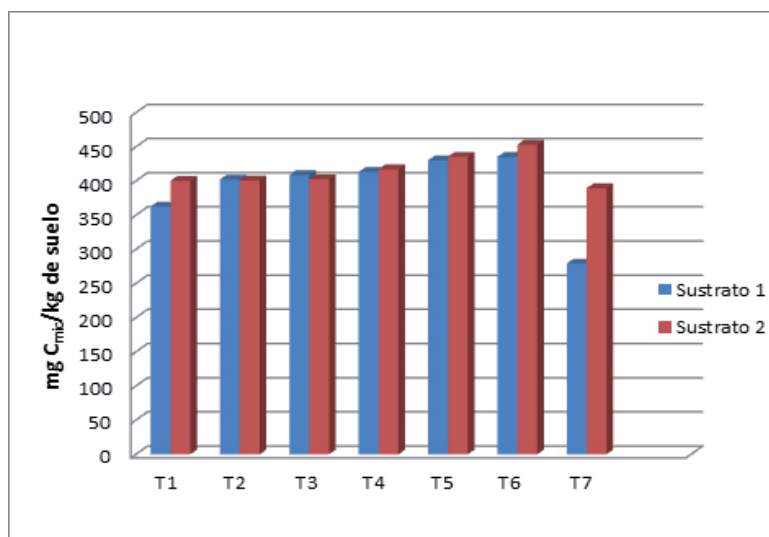


Figura 4. Valores de biomasa microbiana en cada tratamiento en los sustratos evaluados

los mismos que se presentan en el cuadro 1; a pesar de que el proceso de elaboración de los sustratos es bastante similar, difieren en el tipo de suelo y material orgánico empleado. Claramente se observa que el sustrato 2 tiene un mayor contenido de nutrientes esenciales (nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio) y particularmente de materia orgánica, aspectos estos, relacionados con el incremento de la actividad biológica en los suelos.

González-Mancilla y col., (2013), en producción de plantas de cítricos en vivero, demostraron que hubo un incremento significativo de las densidades de bacterias de grupos *Azospirillum*, *Azotobacter*, bacterias solubilizadoras de fósforo y las de potasio en el sustrato como consecuencia de la mineralización del carbono orgánico asociada al tipo, cantidad y calidad de la materia orgánica. Esta estrecha relación entre la actividad biológica y el contenido de materia orgánica de los suelos también es referida en los trabajos realizados por Paolini (2015), Paolini y Benzo (2012) en sistemas de producción de café, Restrepo-Franco y col.,(2015), López y col., (2014) y Sánchez

y col.,(2006) en el cultivo de parchita, entre otros investigadores.

Similar tendencia se observó en el comportamiento de la variable biomasa microbiana cuyos valores oscilaron entre 279,33 y 362,70 mg C_{mic}/kg en el sustrato 1 y 389,55 a 453,26 mg C_{mic}/kg en el sustrato 2. A pesar de que el sustrato 2 mostró en general un comportamiento superior en respuesta a la aplicación de los tratamientos, con excepción de T2 y T3, las diferencias entre ambos sustratos son pequeñas para esta variable (figura 4), con excepción del tratamiento T7 (solo sustrato) en el que si se aprecia una diferencia importante, lo cual reafirma la mayor calidad del sustrato 2 debido a su composición (cuadro 1).

Al respecto, Sánchez y col., (2006) refieren que la cantidad de biomasa microbiana varía dependiendo de la composición y características de los sustratos y que valores altos de esta variable indican que la población de microorganismos tiene **aún suficientes reservas energéticas (materia orgánica) en el medio**; en este aspecto Restrepo-Franco y col., (2015),

sugieren que la cantidad de microorganismos en el suelo o sustrato está definida por la disponibilidad de las fuentes energéticas y siendo así, la concentración y efectividad de los inoculantes para colonizar el medio y mantener su actividad dependerá de su contenido de materia orgánica; esto, permite afirmar que la definición de las dosis y concentración de los biofertilizantes a aplicar estará condicionada por el contenido de los materiales orgánicos presentes en el medio.

En el cuadro 4 se presentan los resultados obtenidos del análisis estadístico realizado a los datos del índice de eficiencia de la inoculación (I.E.I) que representa los incrementos relativos y permite comparar los tratamientos inoculados en diferentes concentraciones con un testigo (en este caso se usó como testigo el tratamiento T1: sustrato + químico).

En ambos sustratos se aprecian diferencias al variar la concentración del biofertilizante aplicado; se obtuvo la mayor eficiencia de inoculación con la concentración más alta de inóculo (T6: Azotofos 30%), este tratamiento fue significativamente superior y distinto a los demás, mientras que T5, T4 y T3 se agrupan en una segunda categoría que también difiere estadísticamente de T2 que fue el tratamiento en el que se obtuvo la menor eficiencia de la inoculación en

los sustratos, que apenas superaron al T1 (sustrato+químico) en 18,79 y 12,01 % respectivamente.

Este comportamiento está asociado inicialmente al incremento de la densidad de microorganismos con la incorporación de dosis crecientes de inóculo; al respecto, González-Mancilla, y col., (2013) y Armado y col., (2009), reportan incrementos en la densidad de microorganismos asociados a las dosis incorporadas al medio, particularmente de *Azospirillum ssp.* *Azotobacter spp* y bacterias solubilizadoras de fósforo.

La figura 5 permite comparar gráficamente el comportamiento que mostraron los sustratos evaluados en relación al I.E.I. Claramente se observa una mayor eficiencia de la inoculación en el sustrato 2, en el cual todos los tratamientos, a excepción del T2 superaron en más del 100% al tratamiento de referencia (T1). En caso del sustrato 1, aunque todos los tratamientos superaron al de referencia, solo el T6 alcanzó un valor de I.E.I levemente superior al 100%. Este resultado permite reafirmar que el establecimiento y colonización del medio por las bacterias, es decir la eficiencia de la inoculación depende de la fertilidad del sustrato (cuadro 1) definida por las características del suelo y particularmente de la fracción orgánica empleada en su elaboración.

Cuadro 4. Índice de eficiencia de la inoculación en los sustratos evaluados.

Tratamientos	I.E.I Sustrato 1	I.E.I Sustrato 2
T6: sustrato + químico + Azotofos 30 %	110,18 a	280,72 a
T5: sustrato + químico + Azotofos 20 %	75,36 b	220,35 b
T4 sustrato + químico + Azotofos 15 %	55,89 b	210,65 b
T3: sustrato + químico + Azotofos 10 %	51,81 b	180,45 b
T2: sustrato + químico + Azotofos 1 %	18,79 c	12,01 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Autores como Sánchez y col., (2006), han reportado una correlación positiva y significativa ($r = 0,7694$; $P < 0,05$) entre la respiración basal del suelo como consecuencia del establecimiento y diversidad de microorganismos en el suelo y el contenido de carbón orgánico, lo que indica que mientras más alto su contenido, mayor es la actividad microbiológica. Un porcentaje de materia orgánica más elevado se traduce en una mayor fuente de energía y de nutrientes para los microorganismos, lo cual contribuye a su desarrollo y a una actividad microbiológica más alta, que se refleja en una mayor producción de CO_2 (Rivero y col., 2016; Restrepo-Franco y col., 2015).

Conclusiones

Los resultados obtenidos evidencian que la inoculación de sustratos con Azotofos incrementó el potencial biológico del suelo (respiración basal y la biomasa microbiana) ya que estos microorganismos encontraron condiciones favorables para su establecimiento y colonización en el medio lo que generó como consecuencia el incremento de la población microbiana y los procesos metabólicos propios de los microorganismos en el cumplimiento de sus funciones en el suelo.

El uso de los biofertilizantes, actualmente constituye una alternativa agroecológica viable mediante la cual se fortalecen las características biológicas y la vida del suelo (potencial biológico) y representa una herramienta tecnológica para el manejo sustentable de la fertilidad de los suelos y la productividad de los sistemas de producción agrícola.

Autores:

*Ing. Agrónomo con Maestría en Manejo de los Recursos Naturales. Profesor Titular, NURR-ULA. Al menos 20 artículos publicados en revistas científicas y tutor de aproximadamente 50 tesis de pre y postgrado. Línea de investigación: Agricultura orgánica: Producción y evaluación de abonos orgánicos. Manejo de la fertilidad de los suelos.

**Ing. Agrónomo. Estudiante de la maestría Fruticultura Tropical, Universidad del Zulia. Investigador PI IV-INIA. 2 publicaciones divulgativas. Línea de investigación: frutales y biofertilizantes.

***Técnico Superior Agrícola. Estudiante de Ingeniería de la Producción en Agroecosistemas. Auxiliar de Laboratorio de Suelos, NURR-ULA. Miembro del grupo de investigación CATADI. 3 artículos publicados en revistas científicas. Línea de investigación: Evaluación de biofertilizantes como alternativa para el manejo de la fertilidad de los suelos.

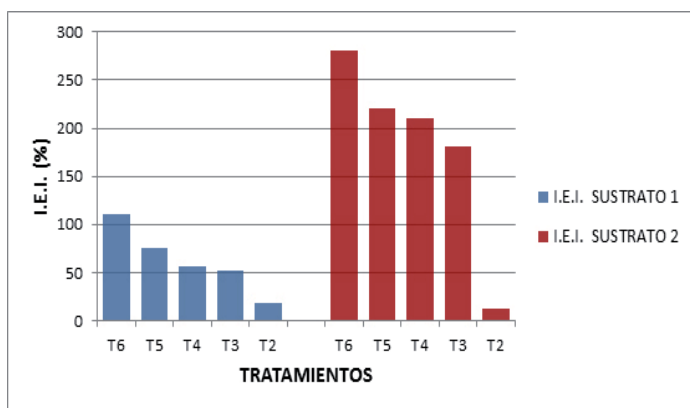


Figura 5. Índice de eficiencia de la inoculación en los dos sustratos evaluados

****Ingeniero de la Producción en Agroecosistemas. Técnico Superior Agrícola. Profesor Instructor NURR-ULA. 3 artículos publicados en revistas científicas y 3 en memorias de congresos. Tutor de 5 tesis de pregrado. Línea de investigación: Evaluación de biofertilizantes como alternativa para el manejo de la fertilidad de los suelos.

Leidimar Montilla. Técnico Superior Agrícola. Estudiante de la carrera Ingeniería de la Producción en Agroecosistemas, Miembro del grupo de investigación CATADI.1 artículo publicado en revistas científicas. Línea de investigación: Evaluación de biofertilizantes como alternativa para el manejo de la fertilidad de los suelos.

Referencias Bibliográficas.

- Acuña O, Peña W, Serrano E, Pocasangre L, Rosales, Delgado, E, Trejos J. y Segura A. 2006. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos. XVII Reunión Internacional da Associação para a cooperação nas pesquisas sobre banana no Caribe e na América Tropical. Joinville-Santa Catarina, Brasil: ACORBAT, p 222-232.
- Acuña O. El uso de biofertilizantes en la agricultura. En: Meléndez G, Soto G (Eds). 2003. Taller de Abonos Orgánicos. Sabanilla, Costa Rica CANIAN/GTZ/UCR/CATIE, p. 67-75.
- Aguado-Santacruz G. Uso de microorganismos como biofertilizantes. En: Aguado-Santacruz, G (Eds). 2012. Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura. México: INIFAP/SAGARPA, p. 35-36.
- Aguilera P, Briceño G, Mora M, Demanet R y Palma G. 2010. Effect of liquid cow manure on chemical and biological properties in an Andisol. R.C. Suelo y Nutrición Vegetal 10(2): 158-169.
- Alarcón A, Alarcón Aleida, Godefroy M. y González G. 2009. Efecto de diferentes concentraciones de *Azotobacter chroococcum* sobre algunos parámetros del crecimiento y el rendimiento del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). Granma Ciencia. Consultado el 20 de enero de 2017. Disponible en: <http://gciencia.idict.cu/index.php/granmacien/issue/view/30>
- Alfonso N, López M y Abreu C. Evaluación de la fertilización en el cultivo de maíz en el estado Guárico. En: Memorias en extenso XXI Congreso Venezolano de la Ciencia del Suelo. San Cristóbal, Venezuela: FEUNET, p. 230-233.
- Altieri M. y Nicholls C 2007. Conversión Agroecológica de sistemas convencionales de producción: teoría, estrategias y evaluación. Ecosistemas. 16 (1):3 - 12.
- Anderson, J. P. Soil respiration in: methods of soil analysis. Part 2. Second edition. 1982 Chemical and microbiological properties. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America, p 831-871
- Anderson J y Domsch K. 1979. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biology & Biochemistry. 10: 215-221.
- Anderson J. Soil respiration. En: methods of soil analysis, part 2. Chemical and microbiological properties. Segunda edición. 1982. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America, p. 837-871.
- Armado A, Contreras F, García P y J Paolini. 2009. Correlación de actividades enzimáticas con la respiración basal en suelos cacaoteros del occidente venezolano. Avances en Química. 4 (2): 73-77.
- Armenta-Bojórquez A, García-Gutiérrez C, Camacho-Báez R, Apodaca-Sánchez M, Gerardo-Montoya L y Nava-Pérez E. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. Ra Ximhai. 6(1): 51-56.

- Avilan L, Leal F y Batista D. 1992. Manual de fruticultura. Principios y manejo de la producción. 2^{da} edición. Maracay, Venezuela: Editorial América C.A., 776 p.
- Beck T, Öhlinger R y Baumgarten A. Substrate-induced respiration. En: Schinner, F, R. Öhlinger, E. Kandeler y Rosa Margesin (Eds). 1995. *Methods in soil biology*. Springer Verlag, Berlin: 64-68.
- Canto J, Medina S y Morales D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum sp* en planta de Chile Habanero (*Capsicum chinensis* Jacquin). *Tropical and subtropical Agroecosystems*. 4: 21-27.
- Cotler H, Martínez M y J Etchevers.. 2016. Carbono orgánico en suelos agrícolas de México: investigación y políticas públicas. *Terra Latinoamericana*. 34 (1): 125-138
- Escobar C, Horna Y, Carreño C y G Mendoza. 2011. Caracterización de cepas de *Azotobacter spp* y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicum esculentum* "Tomate" en Lambayegue. *Scientia Agropecuaria*. 2 (1): 39-49.
- González-Mancilla A, Rivera-Cruz M, Ortiz-García C, Almaraz-Suárez J, Trujillo-Narcía A y Cruz-Navarro G. 2013. Uso de fertilizantes orgánicos para la mejora de propiedades químicas y microbiológicas del suelo y del crecimiento del cítrico *Citrange troyer*. *Fertilizantes orgánicos en suelos*. 28(2):123-139.
- Guerrero-Ortiz P, Quintero-Lizaola, R, Espinoza-Hernández V, Benedicto-Valdés, G y Sánchez-Colín M. 2012. Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de Lupinus. *Terra Latinoamericana*. 30 (4): 355-362.
- López D y M Llorente. 2011. La agroecología hacia un nuevo modelo agrario. *Sistema agroalimentario. Producción ecológica y consumo responsable*. Editorial Ecologistas en Acción. Consultado en Enero 7 2013. Disponible en: <http://www.ecologistasenaccion.org>
- López G, Almonte I, Pérez A, Sotomayor-Ramírez D y Núñez P. 2014. Caracterización biológica de suelos y sustratos empleados en la producción de vegetales en invernaderos. *Cienc Suelo*. 32 (1): 29-39.
- Lozada L y C Rivas. 2010. Evaluación del efecto de la inoculación con *Azotobacter spp* en plántulas de Ají dulce (*Capsicum frutescens*). Trabajo de grado. Trujillo: Núcleo "Rafael Rangel", Universidad de Los Andes, 56 p.
- Martínez R, López M, Dibut B, Parra C y Rodríguez J. 2008. La fijación biológica del nitrógeno atmosférico en condiciones tropicales. Maracay, Venezuela: Publicación especial del Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras. 190 p.
- Matheus J, Briceño G, Ángel N, Baptista P y Simancas D. 2015. Evaluación de la interacción *Azotobacter spp*. – materia orgánica en plantas de parchita (*Passiflora edulis v. flavicarpa*) en vivero. En: *Memorias en extenso XXI Congreso Venezolano de la Ciencia del Suelo*. San Cristóbal, Venezuela: FEUNET, p. 72-77.
- Matheus J, Briceño G, Montilla L y Simancas D. 2014. Evaluación de la interacción *Azotobacter spp*. - materia orgánica y formas de inoculación en ají dulce (*Capsicum chinense*). *Agricultura Andina*. 20: 13-24.
- Morales J, Alarcón A, Remón Y, Godefroy M y González G. 2009. Influencia de diferentes concentraciones de la cepa comercial de *Azotobacter chroococcum*, (INIFAT-12) sobre algunos parámetros morfo fisiológicos y el rendimiento del Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) cv "ISCAB-10". Granma.

- Consultado el 12 de Octubre de 2016. Disponible en: <http://gciencia.idict.cu/index.php/granmacien/issue/view/30>
- Paolini J, Benzo D. 2012. Actividades enzimáticas en cafetales bajo manejo orgánico y convencional. En: XIX Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo. Mar del Plata, Argentina, p. 16-20.
- Paolini J. 2015. Actividad microbiológica y biomasa microbiana en agroecosistemas cafetaleros. En: Memorias en extenso XXI Congreso Venezolano de la Ciencia del Suelo. San Cristóbal, Venezuela: FEUNET, p. 317.322.
- Restrepo-Franco G, Marulanda-Moreno S, Fe-Pérez Y, Díaz de la Osa, A, Lucia-Baldani, V y Hernández-Rodríguez A. 2015. Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *CENIC Ciencias Biológicas*. 46 (1): 63-76.
- Reyes I, Alvarez L, El-Ayoubi H y Valery A. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro*. 20 (1): 37-48.
- Rivero M, Mozena W y Pretrônio de Brito E. 2016. Carbono microbiano del suelo bajo manejo agroecológico en condiciones tropicales. *Avances*. 17 (1): 57-65.
- Sánchez B, Ruiz M y Ríos M. 2005. Materia orgánica y actividad biológica del suelo en relación con la altitud, en la cuenca del río Maracay, estado Aragua. *Agronomía Tropical*. 55(4): 507-534.
- Sánchez de Prager M, Rojas A, Pérez J, Zúñiga O y Gascó J. 2006. Actividad y biomasa microbianas como indicadores de materia orgánica en sistemas de cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis*) en Toro, Valle del Cauca, Colombia. *Acta Agron*. 55 (4):7-12.
- Simancas D, Matheus J. Fernández O, Quintero R y Briceño G. 2015. Evaluación del efecto de la inoculación con *Azotobacter spp* en plantas de ají dulce (*Capsicum frutescens*). En: Memorias en extenso XXI Congreso Venezolano de la Ciencia del Suelo. San Cristóbal, Venezuela: FEUNET, p. 102-106.
- Tejera N, Lluch C, Martínez-Toledo M y González-López J. 2005. Isolation and characterization of *Azotobacter and Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosfera. *Plant and Soil*. 270 (1): 223-232.
- Vandevivere P y Ramírez C. Control de la calidad de abonos orgánicos por medio de bioensayos. En: J García y J. Najera (Eds). 1995. Simposio centroamericano sobre agricultura orgánica. San José, Costa Rica: UNED, p. 21-140.
- Vásquez J, Macías F y Menjivar J. 2013. Respiración del suelo según su uso y su relación con algunas formas de carbono en el Departamento del Magdalena, Colombia. *Bioagro*. 25 (3). 175-180.