

# Efectos de vinazas sobre bacterias rizosféricas y en la actividad-CO<sub>2</sub> y biomasa-C microbiana de un suelo *Pachic Haplustoll*

## Effects of vinasse on rhizosphere bacterial and microbial biomass-C and activity-CO<sub>2</sub> of a *Pachic Haplustoll* soil

Miriam Rosero G<sup>1</sup>; Walter Vargas Bermúdez<sup>2</sup> y Juan Carlos Menjivar Flores<sup>3</sup>.

<sup>1y 2</sup> Ingenieros Agrónomos de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, <sup>3</sup> Profesor Asociado Universidad Nacional de Colombia. AA. 237, Palmira, Valle del Cauca, Colombia; Autor para correspondencia: jcmenjivarf@unal.edu.co, mrossqu@gmail.com, walter2656@hotmail.com.

Rec.:07.11.12 Acep.:20.09.13

### Resumen

En condiciones de casa de malla de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira se estudió los efectos de la aplicación de vinaza, un subproducto de la industria de alcohol carburante, sobre las bacterias rizosféricas *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* promotoras de crecimiento, la actividad-CO<sub>2</sub>, biomasa microbiana-C y el cociente metabólico-qCO<sub>2</sub> en un suelo *Pachic Haplustoll* y su relación con el rendimiento de habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.). Se utilizó un diseño completamente al azar con siete tratamientos y cinco repeticiones. Los tratamientos se seleccionaron con base en los requerimientos de K del cultivo (150 kg/ha K<sub>2</sub>O) utilizando como fuentes KCl y vinaza solos y en mezclas. Los tratamientos evaluados y la época de muestreo influyeron (P < 0.05) en la actividad y biomasa microbiana. Los menores valores de estas variables se presentaron en la época de floración del cultivo cuando la demanda de nutrientes es alta. La mezcla en partes iguales de vinaza y KCl favorece la mayor producción de habichuela sin afectar la actividad microbiana; el cociente metabólico indicó estabilidad del sistema en el tiempo y las bacterias rizosféricas presentaron el mejor crecimiento en la mezcla 75% de potasio como vinaza y 25% como KCl.

**Palabras clave:** Bacterias rizosféricas, biomasa microbiana, cociente metabólico, *Phaseolus vulgaris*, vinaza.

### Abstract

The effect of the application of vinasse, a byproduct of the fuel alcohol industry on growth promoting rhizosphere bacteria (*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*), in Activity-CO<sub>2</sub> and microbial biomass -C and metabolic quotient-qCO<sub>2</sub> a *Pachic Haplustoll*, and its relationship to the performance of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). We used a completely randomized design with seven treatments and five repetitions. The treatments were designed based on the requirements of the crop K<sup>+</sup> (150 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O, Vallejo and Estrada 2004) and made up for using KCl and vinasse combined. The results show significant differences in activity and microbial biomass in the second and third sampling respectively. The highest values of microbial activity are presented in T5 and T7 minors; Microbial biomass presented the highest values in T3 and T7 minors. Rhizosphere bacteria differ significantly; *Pseudomonas fluorescens* in the second sampling, showing the highest values T5 and T6 minors. *Bacillus subtilis* differs in the third sample and the highest values reported in T4 and T1 minor. The negative correlation between metabolic ratio and yield beans, in this way, higher dry matter values are shown in the T6 and T5 minor

**Key words:** Metabolic quotient, microbial biomass, *Phaseolus vulgaris*, rhizosphere bacteria; vinasse.

## Introducción

El componente microbiológico del suelo contribuye al mejoramiento de las propiedades físicas, químicas y biológicas necesarias para el mantenimiento de la fertilidad (Sánchez y Gómez, 2001). El incremento de la producción de residuos resultantes de la agroindustria exige la búsqueda de nuevas alternativas para su manejo. En el departamento del Valle del Cauca, Colombia, se producen altos volúmenes de vinaza, un residuo orgánico resultante de la producción de etanol a partir de caña de azúcar. Debido a su alto contenido de materia orgánica, la vinaza es un material altamente contaminante, especialmente para las fuentes de agua, ya que sus valores de DQOs y DBO para un contenido de sólidos de 10% m/m son 116,000 y 41,200 ppm, respectivamente, por tanto, requiere de un adecuado tratamiento antes de ser utilizada (García *et al.*, 2002).

La vinaza resultante de los procesos agroindustriales tiene un pH variable entre 3.5 y 4.5 y una gama amplia de compuestos orgánicos, entre ellos alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos y azúcares (Morales y Larrahondo, 1998) que cuando se aplican en el suelo afectan los microorganismos benéficos.

Las vinazas producidas en el departamento del Valle del Cauca, Colombia, se caracterizan por presentar pH ácido y elevados contenidos de carbono orgánico, potasio, calcio, magnesio, azufre y concentración electrolítica (Narváez *et al.*, 2010). Comprenden entre 2.1 y 3.4 kg/m<sup>3</sup> de K<sub>2</sub>O (López y Da Silvieira, 2004) y se utilizan principalmente para suplir los requerimientos de potasio en cultivos de caña de azúcar y vid. Por su elevado contenido de potasio son una alternativa como enmienda para corregir problemas de salinidad en el suelo; no obstante, cuando se aplican se debe tener especial atención con los cambios que pueden ocurrir en la conductividad eléctrica (CE) (Subiros y Molina, 1992). Rojas *et al.* (2008) encontraron que la conductividad hidráulica de suelos saturados se reduce en la medida que aumenta la aplicación de vinaza. Por otra parte, Montenegro *et al.* (2009) estimaron que la biomasa microbiana y la eficiencia metabólica en el suelo no se recuperan en el tiempo cuando se ha

aplicado vinaza. Narváez *et al* (2010) consideran que el efecto negativo en la actividad de las deshidrogenasas a través del tiempo es debido a la reducción del espacio poroso en el suelo ( $D.A > 1.4 \text{ g/cm}^3$ ) por efecto de la aplicación de vinazas.

Sánchez *et al* (2010) en Mollisoles observaron que las fracciones inorgánica y orgánica de P disponible y moderadamente disponible se favorecen por la aplicación de vinaza, lo que aumenta la disponibilidad continua de este nutriente en el tiempo. Según Gasca *et al.* (2011) la aplicación de vinaza favorece algunas propiedades químicas y biológicas del suelo, contribuyendo con la reducción del Porcentaje de Sodio Intercambiable (PSI) y la Relación de Absorción de Sodio (RAS), con el incremento de C-biomasa microbial y una mayor actividad biológica. Los estudios sobre utilización de vinazas para el control de hongos fitopatógenos son escasos; en este sentido, Santos *et al.* (2008) no hallaron efecto de la vinaza sobre bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar, en condiciones de casa de malla, el efecto de la aplicación de potasio como vinaza y KCl en un *Pachic Haplustoll* cultivado con habichuela, sobre las bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento (*P. fluorescens* y *B. subtilis*), la actividad-CO<sub>2</sub>, la biomasa microbiana-C, y el cociente metabólico del suelo-qCO<sub>2</sub>.

## Materiales y métodos

La investigación se desarrolló en la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, departamento del Valle del Cauca, entre 3° 30' 45" N y 76° 18' 29" E, a 965 m.s.n.m. y 24 °C de temperatura promedio. Se utilizó un *Pachic Haplustoll* (Velásquez y Sánchez de Prager, 2011) con bajos contenidos de potasio (K) esterilizado en autoclave a 120 °C con una presión de 20 psi por 2 h, con excepción de los tratamientos T5 y T6. Se hizo un análisis inicial de las propiedades físicas y químicas del suelo y se utilizó vinaza caracterizada por Velásquez y Sánchez de Prager (2011) por pH, materia orgánica (M.O.), elementos mayores y menores y conductividad eléctrica (CE).

## Tratamientos y diseño experimental

Se empleó un diseño experimental completamente al azar, con siete tratamientos (Cuadro 1) y cinco repeticiones, para un total de 35 unidades experimentales, que consistieron en materas con capacidad de 5 kg de suelo en las cuales se establecieron dos plantas de habichuela, variedad Unapal Milenio (Vallejo y Estrada., 2004). Las dosis de K aplicadas se escogieron según los requerimientos del cultivo (150 kg/ha de K<sub>2</sub>O) para una producción de 20 t/ha (Vallejo y Estrada, 2004). Como fuentes se utilizaron KCl y vinaza con 19% sólidos totales (ST) y 1.43% (p/v) de K.

Para la inoculación de los microorganismos benéficos se usó una concentración de  $1 \times 10^9$  ufc/ml de las cepas bacterianas *P. fluorescens* (PN1), nativa de la zona plana del departamento del Valle del Cauca, y *B. subtilis* comercial (BC2). Los muestreos se cumplen en cuatro épocas del cultivo.

## Mediciones

Las mediciones se hicieron a 8, 16, 35 y 45 días después de la siembra (d.d.s.) que coincidieron con épocas clave del desarrollo fisiológico del cultivo: germinación, adaptación, prefloración y llenado de grano.

La actividad microbiana-CO<sub>2</sub> (μg de C/g de suelo por día) se midió en muestras de 50 g de suelo utilizando el método de respirometría, de acuerdo con el Centro de Agrobiología del Brasil, descrito por Cadena y Madriñán (1998). La biomasa microbiana (μg de C/g de suelo) se midió en muestras de 20 g de suelo seco, según el método de fumigación-extracción (Vance *et al.*, 1987). El CO<sub>2</sub> se

estimó por los métodos de Vance *et al.* (1987) y del Centro de Agrobiología del Brasil. La biomasa microbiana se midió para cada unidad experimental y el cociente metabólico ( $qCO_2$ ) se calculó mediante la ecuación siguiente:

$$q(CO_2) = \text{Actividad microbiana}$$

$$(\mu C-CO_2/g \text{ de suelo por día})/$$

$$\text{biomasa microbiana } (\mu g C/g \text{ de suelo}).$$

Para la cuantificación de las comunidades microbianas en el suelo se utilizó la metodología propuesta por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira; para el efecto se tomaron muestras de suelo de cada unidad experimental las cuales fueron secadas al aire y tamizadas en malla de 2 mm antes de tomar submuestras de 200 g para la estimación por triplicado de unidades formadoras de colonia (ufc). Para el cálculo de estas unidades se utilizaron diluciones de suelo en agua destilada desde  $10^{-6}$  hasta  $10^{-9}$  que fueron colocadas sobre medios de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) para el caso de *B. subtilis* y KB (King B) para *P. fluorescens* e incubadas a 28 °C. El recuento de colonias desarrolladas en cada dilución se realizó a partir de 24 h de incubación (Benjumea, 1998), antes de calcular las unidades formadoras de colonias. La acumulación de biomasa (MS,%) se determinó a partir del peso seco del follaje, tallos y raíces cosechados en cada unidad experimental. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y prueba de comparación de medias, además se hicieron correlaciones y regresiones con uso de un programa SPSS 20 (IBM 2011).

**Cuadro 1.** Descripción de los tratamientos utilizados.

Tratamientos	Composición	Cantidades de vinaza y KCl/matera
T1	100% de K como vinaza + <i>P. fluorescens</i> + <i>B. subtilis</i>	500 ml
T2	100% de K como KCl + <i>P. fluorescens</i> + <i>B. subtilis</i>	9.25 g
T3	50% de K como vinaza y 50% KCl + <i>P. fluorescens</i> + <i>B. subtilis</i>	250 ml + 4.63 g
T4	75% de K como vinaza y 25% KCl + <i>P. fluorescens</i> + <i>B. subtilis</i>	375 ml + 2.31 g
T5	100% de K como vinaza y sin bacterias	500 ml
T6	100% de K como KCl y sin bacterias	9.26 g
T7	Testigo sin fuentes de K + <i>P. fluorescens</i> + <i>B. subtilis</i>	Sin aplicación

## Resultados y discusión

### Caracterización de la vinaza y el suelo

La vinaza utilizada presentó una alta acidez y alto contenido de M.O., elevada conductividad eléctrica (CE) y un buen contenido de K<sub>2</sub>O (1.43%). El suelo es franco limoso con pH ligeramente ácido (6.23), con altos contenidos de fósforo (197.35 mg. kg), materia orgánica (4.78%), calcio (17.34 Cmol. kg), magnesio (5.88 Cmol. kg), boro (1.41 mg. kg), manganeso (47.85 mg. kg<sup>-1</sup>), azufre (55.56 mg. kg), y bajos contenidos de potasio (0.2 Cmol.kg), cobre, hierro y zinc (1.42, 7.19, 3.55 mg. kg respectivamente. (Velásquez y Sánchez de Prager, 2011).

**Actividad microbiana.** La actividad microbiana-CO<sub>2</sub> presentó valores significativos (P < 0.05) en la segunda época de muestreo (Cuadro 2). En la Figura 1 se observa que los valores más altos de actividad microbiana

se presentaron en el primer muestreo en todos los tratamientos, seguidos del segundo y cuarto muestreos. En este primer muestreo los mayores valores se observaron en el tratamiento T6 (100% de K como KCl, sin bacterias) con 343.35 µgC-CO<sub>2</sub>/g, y los más bajos en el T2 (100% de K como KCl + *P. fluorescens* + *B subtilis*) con 236.62 µgC-CO<sub>2</sub>/g.

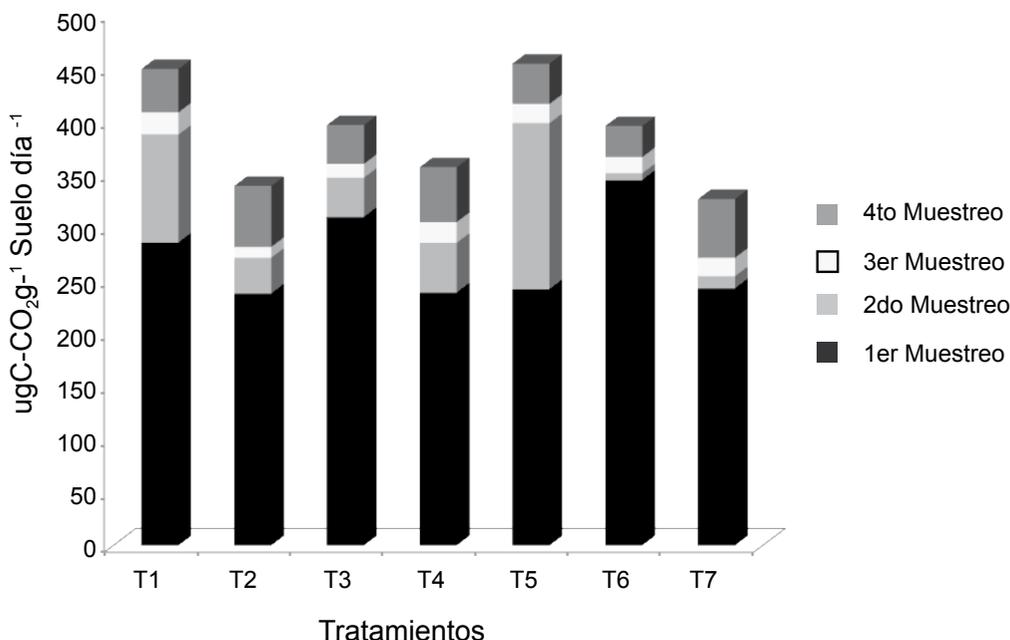
En el tercer muestro los menores valores se encontraron nuevamente en el tratamiento T2 (10.06 µgC-CO<sub>2</sub>/g), mientras que en el tratamiento T1 (100% de K como vinaza + *P. fluorescens* + *B. subtilis*) se presentaron los mayores (20.84 µgC-CO<sub>2</sub>/g).

Los valores de actividad microbiana observados en los diferentes muestreos presentaron orden descendente según los tratamientos: T5 > T1 > T3 > T6 > T4 > T2 > T7. Los mayores valores en el primer muestreo y los descensos en los demás se debieron, posiblemente, al mayor aporte de M.O. en el

**Cuadro 2.** Análisis de varianza para actividad y biomasa microbiana por muestreo.

Variable	Muestreo			
	1	2	3	4
Actividad microbiana	0.68 NS	0.001**	0.88 NS	0.32 NS
Biomasa microbiana	0.72 NS	0.70 NS	0.003**	0.096 NS

\*\* P < 0.05.



**Figura 1.** Comportamiento de la actividad microbiana por tratamientos en las épocas de muestreo.

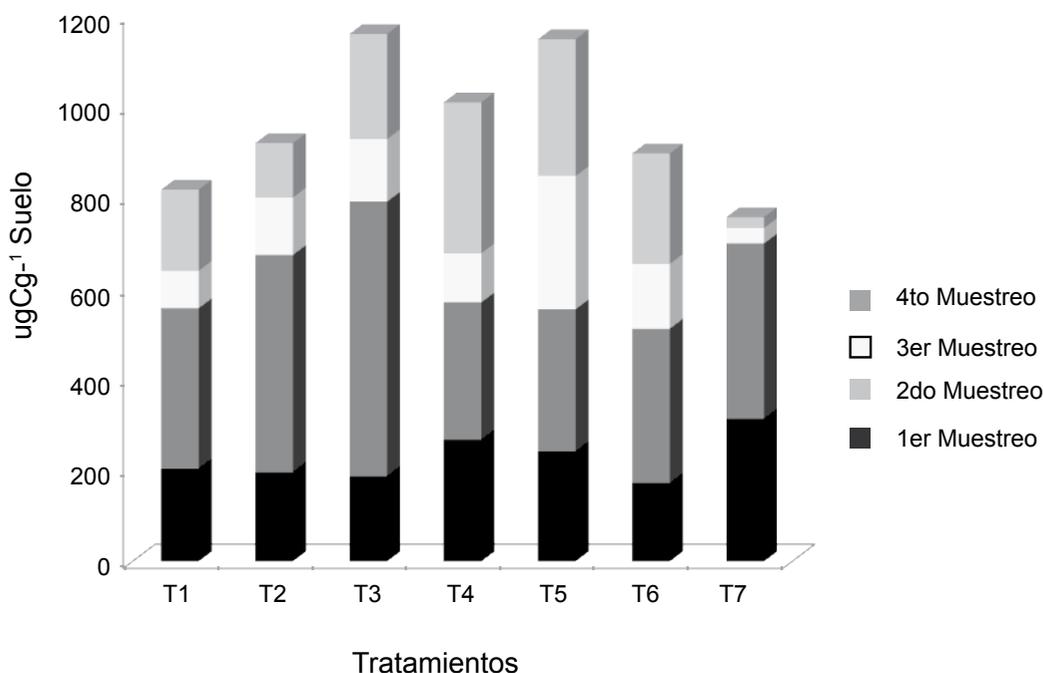
primer caso y a la descomposición de sustratos por los microorganismos en el suelo, en el segundo caso, lo que concuerda con los hallazgos de Silva *et al.* (2005). Tenorio *et al.* (2000) asociaron este comportamiento de la actividad microbiana con cambios en el pH del suelo. Los valores encontrados en este estudio son más altos que los hallados por Montenegro *et al.* (2009) y menores que los reportados en condiciones de campo por Gasca *et al.* (2011).

**Biomasa microbiana.** Esta característica presentó los menores valores ( $P < 0.05$ ) en el tercer muestreo (Cuadro 2). En la Figura 2 se observa que los mayores valores de esta característica se presentaron en el tratamiento T3 (50% de K como vinaza y 50% como KCl + *P. fluorescens* + *B. subtilis*) seguido de los tratamientos T5, T4, T2, T6 y T1. En el segundo muestreo los mayores valores de biomasa microbiana se presentaron en el tratamiento T3 (50% de K como vinaza y 50% como KCl + *P. fluorescens* + *B. subtilis*) con 603.79  $\mu\text{gC/g}$  de suelo y el menor valor en el tratamiento T4 (75% de K como vinaza y 25% como KCl + *P. fluorescens* + *B. subtilis*), con 302.15  $\mu\text{gC/g}$  de suelo.

Los valores más bajos de biomasa microbiana ocurrieron en el tercer muestreo en el tratamiento T7 (Testigo) con 34.03  $\mu\text{gC/g}$  de suelo, mientras que en el tratamiento T5 (100% de K como vinaza, sin bacterias) se presentaron los mayores valores dentro de este muestreo (292.87  $\mu\text{gC/g}$  de suelo). De acuerdo con los resultados hallados por Fauci y Dick (1994) los valores de biomasa en el presente estudio se consideran normales para el primero y cuarto muestreos, bajos para el tercero y altos para el segundo.

La biomasa microbiana presentó un comportamiento similar al de la actividad microbiana, ya que ambos parámetros mostraron los menores valores en el tercer muestreo al inicio de la floración cuando la planta tiene mayor actividad, además en esta época ya han ocurrido procesos de mineralización y el sustrato para los microorganismos disminuye, lo que coincide con los hallazgos de Tate (2000) citado por Montenegro *et al.* (2009).

**Cociente metabólico.** El análisis de varianza no mostró diferencias ( $P > 0.05$ ) por efecto de los tratamientos. Los mayores valores del cociente metabólico se presentaron en el tratamiento T6, y los menores en el T4 (Cuadro 3);



**Figura 2.** Comportamiento de la biomasa microbiana por tratamientos en las diferentes épocas de muestreo.

**Cuadro 3.** Cociente metabólico por efecto de los tratamientos.

Coeficiente	Tratamiento						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
qCO <sub>2</sub>	0.56	0.72	0.85	0.43	0.65	0.85	0.50

en orden descendente T6 > T3 > T2 > T5 > T1 > T7 > T4. Este cociente tendió a descender a través del tiempo en todos los tratamientos, lo que muestra procesos asociados con la descomposición de la M. O., ya que los valores son < 1, y de estabilidad del sistema. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Doran *et al.* (1994) quienes encontraron valores altos de qCO<sub>2</sub> en ecosistemas jóvenes (inmaduros) y bajos en ecosistemas maduros, es decir, la relación entre la respiración total y la biomasa total de un ecosistema debe disminuir progresivamente, a medida que éste alcanza el estado de equilibrio o estabilidad. **Bacterias rizosféricas.** El efecto de las aplicaciones de los diferentes tratamientos

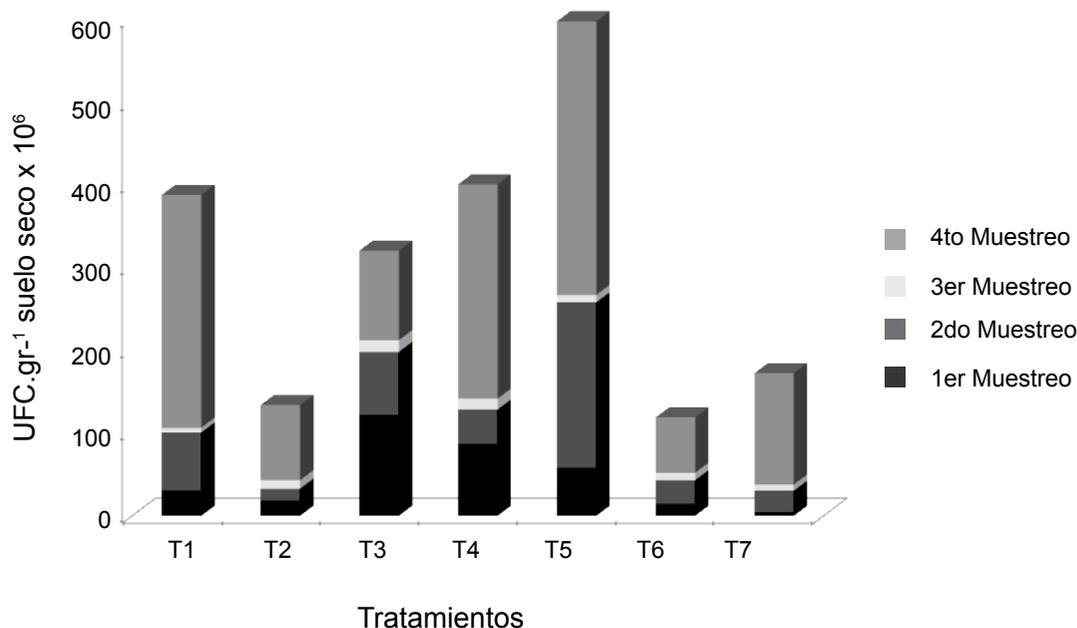
sobre las bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento mostraron diferencias (P < 0.5) en *P. fluorescens* para la segunda época de muestreo y para *B. subtilis* en el tercer muestreo (Cuadro 4).

Los mayores valores de unidades formadoras de colonias de *P. fluorescens* (ufc/g de suelo seco) se presentaron en el cuarto muestreo (Figura 3), siendo más altos en el tratamiento T5 (100% de K como vinaza, sin bacterias) con 330.83 x 10<sup>6</sup> ufc/g y más bajos (67.01 x 10<sup>6</sup> ufc/g) en el tratamiento T6 (100% de K como KCl, sin bacterias). Los menores valores de bacterias rizosféricas (5.47 x 10<sup>6</sup> ufc) se presentaron en el tratamiento T1 del tercer muestreo y los mayores (14.06 x 10<sup>6</sup> ufc) en

**Cuadro 4.** Análisis de varianza por muestreo para bacterias rizosféricas.

Bacteria	Muestreo			
	1	2	3	4
<i>P. fluorescens</i>	0.61NS	0.03**	0.80 NS	0.68 NS
<i>B. subtilis</i>	0.49 NS	0.41 NS	0.002**	0.18 NS

\*\* P < 0.05.



**Figura 3.** Comportamiento por tratamientos de las bacterias rizosféricas *P. fluorescens*

el tratamiento T3 (50% de K como vinaza y 50% como KCl + *P. fluorescens* + *B. subtilis*).

El número más alto de ufc ocurrió en el tratamiento T5 y en orden descendente siguieron los tratamientos T1 > T4 > T3 > T7 > T2 > T6 (Figura 3). *Pseudomonas fluorescens* presentó los mayores valores (330.22 x 10<sup>6</sup> ufc/g) en el cuarto muestreo del tratamiento T5 (100% vinaza sin inoculación de bacterias), mientras que los menores valores (8.86 x 10<sup>6</sup> ufc/g) se presentaron en el tercer muestreo, coincidiendo con la época de floración del cultivo.

Los bajos valores en el tercer muestreo (8.90 x 10<sup>6</sup> ufc/g) se pueden considerar normales, ya que en este momento la demanda de nutrientes modifica la rizosfera y puede generar algunos cambios en sus exudados que afecten a la bacteria, al igual que al ion K<sup>+</sup> de KCl.

La población de *B. subtilis* fue más baja (P < 0.05) en el tercer muestreo (Cuadro 4). En la Figura 4 se observa que los mayores valores de la bacteria se dieron en el tratamiento T4, seguido en orden descendente por los tratamientos T6 > T7 > T2 > T3 > T5 > T1.

La época de muestreo influyó en las ufc de *B. subtilis* (Figura 4), siendo el número de éstas más alto (78.57 x 10<sup>6</sup> ufc/g) en el primer muestreo y en el tratamiento T4 (75% de K como vinaza y 25% como KCl + *P. fluorescens* + *B. subtilis*). Los valores más bajo (1.38 x 10<sup>6</sup> ufc/g) se presentaron en el tercer muestreo del tratamiento T1 (100% de K como vinaza + *P. fluorescens* + *B. subtilis*) y los más altos (19.09 x 10<sup>6</sup> ufc/g) se presentaron en el primer muestreo. Los bajos valores de ufc en este tratamiento pueden ser debidos a un efecto del bajo pH que caracteriza las vinazas. Los mejores resultados para esta bacteria se presentan en los tratamientos con las dosis más bajas de vinaza.

Los mayores rendimientos de habichuela se encontraron en el tratamiento T6 (100% KCl sin inoculación bacteriana) y los menores en el tratamiento T5 (100% vinaza sin inoculación bacteriana) (Cuadro 5). Cuando se analizó el rendimiento en función del cociente metabólico (Figura 5) el análisis de regresión por modelación lineal fue altamente significativo (P < 0.01). El análisis relaciona la

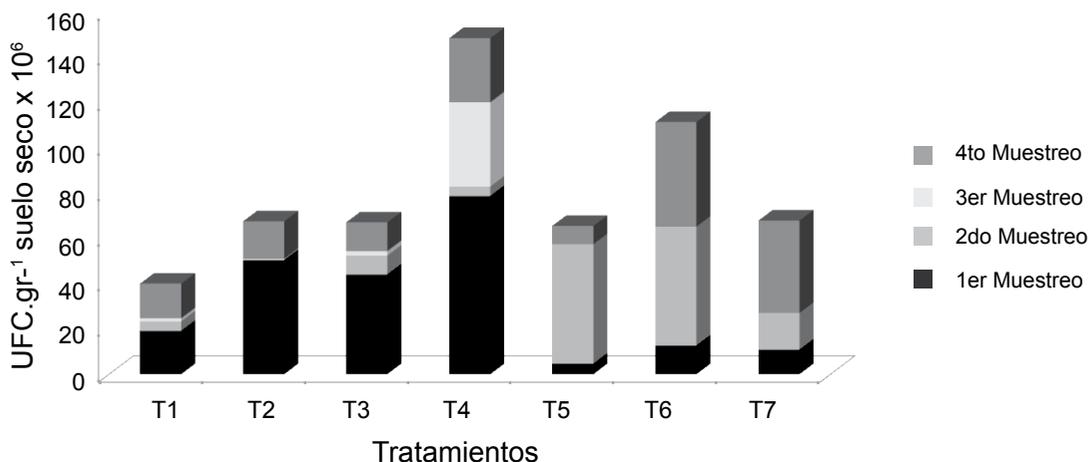


Figura 4. Comportamiento por tratamientos de la bacteria rizosférica *B. subtilis*.

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos sobre el rendimiento de habichuela.

Tratamiento	Rendimiento en porcentaje de materia seca		
	1	2	3
T5	23.77	-	-
T4	23.89	-	-
T1	25.07	25.07	-
T3	30.40	30.40	30.40
T7	31.75	31.75	31.75
T2	-	33.85	33.85
T6	-	-	36.54

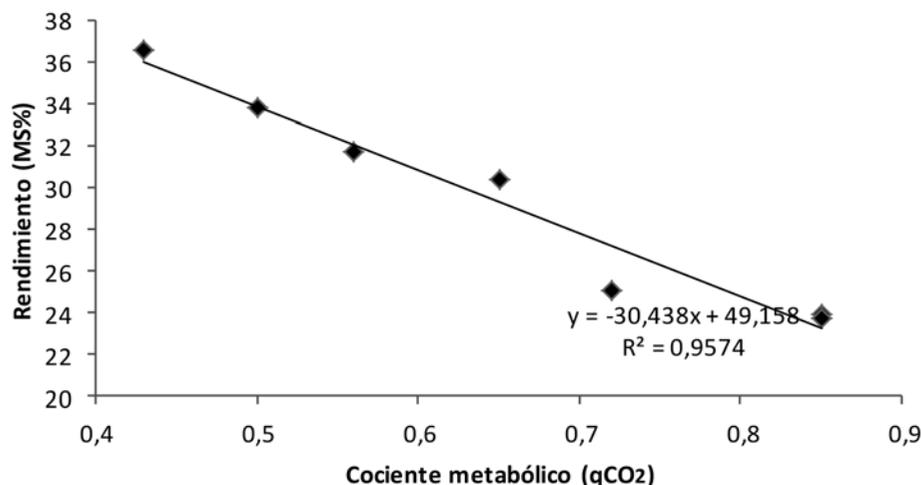


Figura 5. Relación entre rendimiento de habichuela y cociente metabólico.

actividad y la biomasa microbiana y demuestra que a medida que el cociente metabólico es menor que uno (< 1), los rendimientos son altos, posiblemente por una mayor disponibilidad de nutrientes debido a procesos de descomposición y mineralización de la M.O.

### Conclusiones

- Los tratamientos y las épocas de muestreos, que coincidieron con etapas fisiológicas del cultivo de habichuela, influyeron significativamente en la actividad y desarrollo de la biomasa microbiana. Los menores valores en ambas variables se presentaron cuando la planta estaba en floración y demandaba más nutrientes.
- La mezcla en cantidades iguales de K y vinaza favoreció la biomasa microbiana en los suelos del ensayo. El cociente metabólico mostró estabilidad del sistema en el tiempo.
- Las bacterias rizosféricas revelaron su mejor crecimiento en la mezcla 75% de K como vinazas más 25% como KCl.
- Los mejores rendimientos de materia seca del cultivo de habichuela, *P. vulgaris* L., sucedieron en los tratamientos que incluyeron KCl como fuente de K en mezcla con vinazas.

### Agradecimientos

A la Dirección de Investigación (DIPAL) de la Universidad Nacional de Colombia sede Pal-

mira y al grupo de investigación de suelos: Uso y Manejo de Suelos y Aguas con énfasis en Degradación de Suelos. Al doctor Carlos Huertas por su valiosa colaboración, que hizo posible el desarrollo de este trabajo.

### Referencias

- Benjumea, C. P. 1998. Evaluación de la actividad microbiana en cultivos de plátano musa AAB en Roza Valle del Cauca. Tesis de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Palmira, Valle, Colombia. 63 p.
- Cadena, S. F. y Madriñan, R. M. 1998. Estimación de la biomasa microbiana en suelos de ladera bajo diferentes sistemas de manejo. Acta Agron. 48(3 - 4):37 - 42.
- Doran, J. W.; Coleman, D. C.; Bezdicek, D. F.; y Stewart, B. A. 1994. Defining soil quality sustainable environment. SSA Sp. Madison. Pub. 35. 244 p.
- Fauci, M. F. y Dick, R. P. 1994. Soil microbial dynamics short and long term effect of organic and inorganic nitrogen. Soil Sci. Soc. Amer. J. 58:801 - 806.
- García, I. C.; Gil, S. F; Hernandez, F. T; y Trasar C. C. 2002. Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos de suelos: Medida de las actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Ediciones Mundi prensa. Madrid. Barcelona y México.
- García, L; Shloter, M; Durkaya, T; Hartmann, A; y Gutiérrez, F. 2003. Colonization of pepper roots by a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* Strain. Biol. Fertil. Soils 37:381 - 385.
- Gasca, C. A; Menjivar, F. J. C; y Torrente, T. A. 2011. Cambios en el porcentaje de sodio intercambiable

- (PSI) y la relación de absorción de sodio (RAS) de un suelo y su influencia en la actividad y biomasa microbiana. *Acta Agron.* 60(01):27 - 38.
- López De A, S. A y Dias de Silveira, A. P. 2004. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influencia de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. *Pesq. Agropec. Bras.* 39(12):1191 - 1198.
- Montenegro, G. S.; Menjivar F. J.; Bonilla, C. C. y Madriñan, M. R. 2009. Influencia de la aplicación de vinaza en la actividad y biomasa microbiana en un *Entic Dystropey* y un *Fluventic haplustoll* del Valle del Cauca Colombia. *Acta Agron.* 58(01):41 - 45.
- Morales, A y Larrahondo, J. 1998. Identificación de compuestos orgánicos en vinaza. Sucromiles S.A.y Cenicaña. Vinaza potasio y elementos menores para una agricultura sostenible. Sociedad Colombiana de Ciencia del Suelo. Mayo 13- 14 2004: Palmira-Colombia). CD-Rom
- Narváez C. M; Sánchez de P. M; y Menjivar F. J. C. 2010. Cambios en las propiedades químicas y en la actividad de las fosfatasa en suelos cultivados con maíz dulce (*Zea mays* L.) fertilizados con vinaza. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 60(02):5533 - 5541.
- Narváez C. M; Sánchez de P. M; y Menjivar F. J. C. 2010. Efecto de las vinazas en las propiedades físicas y en la actividad de las deshidrogenasas en suelos cultivados con maíz (*Zea mays* L.). *Acta Agron.* 59(02):211 - 217.
- Rojas, M. L; Rojas, P. H; y Menjivar F. J. C. 2008. Estimación de la conductividad hidráulica saturada in situ en un suelo tratado con vinaza. *Acta Agron.* 57(02):125 - 128.
- Sánchez de P. M. y Gómez, E. D. 2001. El suelo, un sistema vivo. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. p. 26.
- Santos, M; Diáñez, F; De Cara, M; y Tello, J. C. 2008. Possibilities of the use of vinasses in the control of fungi phytopathogens. *Biores. Technol.* 99:9040 - 9043
- Silva P. A; Coral, D. M.; y Menjivar F. J. C. 2006. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la actividad microbial y rendimiento de avena forrajera en un suelo Andisol del departamento de Nariño Colombia. *Acta Agron.* 55(01):55 - 63.
- Subiros, J. y Molina, E. 1992. Efecto de la aplicación de vinazas en la producción de caña de azúcar y en las características químicas de un Inceptisol de Guanacaste, Costa Rica. *Agron. Costarr.* 16(01):55 - 60.
- Tate, R. L. 2000. Soil microbiology. 2nd ed. Jhon Wiley & Sons , Nueva York. EE. UU.
- Tenorio, Z; Silveira, O; Ferreira da Silva, O; Gascó, J; y Guerrero, F. 2000. Estudios 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., *Rev. Brasil. Eng. Agríc. e Ambienta.* 4(1):70 - 74.
- Vallejo, C. F. A. y Estrada, S. E. I. 2004. Producción de hortalizas de clima cálido. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. p. 269 - 287.
- Vance, E; Brookes, P; y Jenkinson, D. 1987. An extraction methods for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Bioch.* 19(6):703 - 707.
- Velásquez, D. y Sánchez de Prager, M. 2011. Efecto de vinazas sobre hongos que forman micorriza arbuscular en un Molisol del Valle del Cauca, Colombia. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín.* 64(01):5755 - 5767.