

**UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES**



**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE COMPOST E INOCULANTE MICROBIANO EN  
EL CULTIVO DE UVA DE MESA VARIEDAD *Thompson seedless*”**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera, como parte de los requisitos para optar al título de Biotecnólogo.

**PAOLA ALEJANDRA FINCHEIRA ROBLES**

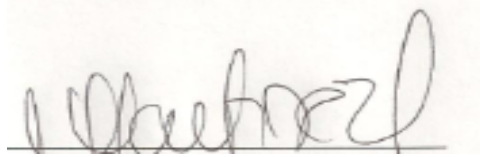
**TEMUCO- CHILE**

**2011**

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE COMPOST E INOCULANTE MICROBIANO EN  
EL CULTIVO DE UVA DE MESA VARIEDAD *Thompson seedless*”**

PROFESOR GUIA

:



María Mercedes Martínez Salgado  
Microbióloga  
Magister en Microbiología  
Departamento de Industrias  
Universidad Técnica Federico Santa María

PROFESORES CONSEJEROS

:

\_\_\_\_\_

Maribel Eugenia Parada Ibañez  
Profesor en Biología y Cs. Naturales  
Magister en Ciencias mención Protección Vegetal  
Doctora en Ciencias por la Universidad de Sevilla  
Departamento de Cs. Agronómicas y Recursos Naturales  
Universidad de La Frontera

CALIFICACION PROMEDIO TESIS

:

\_\_\_\_\_

## INDICE

<b>Capítulo</b>		<b>Página</b>
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	5
2.1	Uva de mesa: Concepto y desarrollo	5
2.1.1	Importancia y productividad de uva de mesa	5
2.1.2	Requerimientos agronómicos de uva de mesa	5
2.2	Importancia del sistema suelo para el cultivo de vid	6
2.3	Uso de inóculos microbianos en Chile	11
2.4	Indicadores de calidad de suelo	12
2.4.1	Indicadores químicos	13
2.4.2	Indicadores enzimáticos	15
2.4.3	Indicadores microbiológicos	17
3	MATERIALES Y METODO	20
3.1	Materiales e infraestructura	20
3.2	Método	22
3.2.1	Diseño experimental	22
3.2.2	Evaluaciones	23
3.2.3	Medición Variables agronómicas	23
3.2.4	Variables químicas	23
3.2.5	Metodología utilizada para variables enzimáticas	25
3.2.6	Procedimientos microbiológicos	26
3.3	Análisis estadístico	26
4	PRESENTACION DE RESULTADOS Y DISCUSION	27
5	CONCLUSIONES	43
6	RESUMEN	45
7	SUMMARY	46

8	LITERATURA CITADA	47
9	ANEXOS	53

**INDICE DE CUADROS**

<b>Cuadro</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Efectos de la adición de enmiendas orgánicas en el suelo.	9
2	Características químicas de los sustratos.	21
3	Descripción de tratamientos del ensayo de uva de mesa, en macetas realizado bajo condiciones controladas en la temporada verano- otoño 2011 en Santiago.	22
4	Cuadro de comparación de medias entre las variables altura de tallo y diámetro de tallo, que corresponden a las variables agronómicas evaluadas.	27
5	Valores promedios de los indicadores de calidad químicos obtenidos por los tratamientos aplicados a vides de la var. <i>Thompson seedless</i> .	31
6	Correlación de indicadores de calidad químico con el crecimiento y diámetro de tallo de vides var. <i>Thompson seedless</i>	32
7	Valores promedios de las diferentes actividades enzimáticas obtenidas por los tratamientos.	36
8	Correlación de actividad enzimática y nutrientes disponibles en vides <i>Thompson seedless</i> tras 5 meses de evaluación de tratamientos.	39
9	Promedios y diferencias entre tratamientos de análisis microbiológico.	42

**INDICE DE FIGURAS**

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Composición del suelo	7
2	Diferencia entre el valor de altura inicial de plantas de vid variedad <i>Thompson seedless</i> y la altura lograda a los cuatro meses fecha de finalización del ensayo.	30

## ABREVIATURAS

<b>Palabra</b>	<b>Siglas</b>
tonelada	ton
hectárea	ha
conductividad eléctrica	CE
materia orgánica	MO
compost	C
inóculo microbiano	I
Fertilizante químico	F
Unidad fosfatasa ácida	acUP
Unidad fosfatasa alcalina	alkUP
Unidad $\beta$ glucosidasa	UBG
Unidad deshidrogenasa	UDH

## 1.- INTRODUCCION

La uva de mesa, constituye uno de los principales ejes de exportación frutícola en Chile, ocupando uno de los primeros lugares a nivel mundial junto a Estados Unidos y Sudáfrica (Bravo, 2010).

Su cultivo se extiende desde la Región de Atacama hasta la Región del Maule, abarcando gran parte del territorio nacional. Las variedades de uva cultivadas en Chile corresponden a *Thompson seedless*, *Crimson seedless*, *Red Globe*, *Flame seedless*, *Superior seedless*, *Autumn royal*, *Ribier* y *princess* entre otras, siendo la variedad *Thompson seedless* la que tuvo el mayor índice de superficie plantada de vid de mesa durante el periodo 2008-2010 con 15.971 ha de un total de 53.926 ha cultivadas (Bravo, 2010).

La variedad *Thompson seedless* tiene un rendimiento de 15-28 ton/ha, con un promedio de 20,8 toneladas aproximadamente, siendo la proporción no exportable de 2 -10,3 ton/ha con un promedio de 4,7 ton/ha y la exportable se encuentra en el rango de 12-20 ton/ha, con un promedio de 16,2 ton/ha (Costabal, 2010).

Agronómicamente las vides de mesa son exigentes en cuanto a nutrientes, es por ello que tradicionalmente se les aplica una gran cantidad de productos químicos. Los requerimientos de nitrógeno se le proporcionan a la vid a través de la fertilización con urea, sulfato de amonio, nitrato de amonio, nitrato de calcio y nitrato de potasio, las fuentes de fosfato son entregadas mediante la aplicación de superfosfato triple, fosfato di y monoamónico y ácido fosfórico y las fuentes de fertilizante potásico a través de cloruro de potasio, sulfato de potasio, nitrato de potasio y sulfato de potasio y magnesio (Sierra, 2001).



Sin embargo, en la actualidad se ha observado un grave problema relacionado con el uso indiscriminado de los fertilizantes químicos utilizados tanto en el área agronómica como en el área forestal. Las plantaciones de uva no están exentas de este problema el cual se debe principalmente al porcentaje de lixiviación que tienen dichos productos. Es por ello que se busca una alternativa de fertilización que permita mantener o restaurar la calidad de los suelos con el propósito de obtener una producción de calidad, considerando además que nuestro país se destaca a nivel internacional por sus exportaciones agrícolas y frutícolas.

La fertilización orgánica se propone como una alternativa viable por los efectos positivos observados en parámetros químicos, microbiológicos y físicos del suelo. Este tipo de fertilización ha sido aplicado para incrementar la disponibilidad de nutrientes del suelo, además de mejorar las propiedades del mismo, tanto en cultivos orgánicos como en cultivos con manejo tradicional.

En Chile, la fertilización orgánica, se basa en la aplicación de subproductos o residuos de actividades productivas, los que se pueden clasificar según su origen en subproducto de residuo animal, lodos de tratamientos industriales líquidos y subproducto de la industria o actividades productivas, estos productos también son llamados enmiendas orgánicas (Hirzel y Salazar, 2011).

Los beneficios asociados a la aplicación de estas enmiendas incluyen la retención de humedad favorable a la planta, la capacidad de mantener las temperaturas más estables, favorecer la agregación de partículas y elementos, la capacidad de desintoxicar a la planta frente a aplicaciones dañinas y facilitar el crecimiento de raíces generando un aporte nutricional extra.

Las aplicaciones de enmiendas orgánicas en Chile se realizan en forma de guano madurado de pollos broiler y de pavos, bioestabilizados de cerdo, purín y estiércol de bovino y lodos de

piscicultura (Hirzel y Salazar, 2011). La cantidad de enmienda aplicada a las plantas de uva de mesa se encuentra entre 10-15 ton/ha de estiércol, contribuyendo con un aporte nutricional extra.

También se lleva a cabo la aplicación “In situ” de compost, el cual se define como el producto que se obtiene al someter restos orgánicos a un proceso de fermentación aerobia que la transforma en una mezcla estable y homogénea, con un gran valor agronómico (Martínez *et al.*, 2010).

El uso de la materia orgánica en cultivos de uva se ha llevado a cabo tras una política de reciclaje, donde la materia orgánica proveniente de desechos urbanos se ha utilizado como enmienda para la agricultura con el propósito de aumentar el nivel de calidad del suelo (Barral *et al.*, 2009), lo que puede verse reflejado a través de propiedades físicas, químicas, microbiológicas y enzimáticas (Ochoa, 2007). Esto ha sido tema de investigación en diversos lugares del mundo, ya que el propósito es aplicar estas enmiendas para mejorar la productividad y la calidad del suelo (Paradelo *et al.*, 2009 y Romero *et al.*, 2010).

Por lo anteriormente expuesto se ha propuesto como hipótesis de trabajo “que el compost y el inóculo microbiano aumentan la actividad biológica del suelo, contribuyendo al crecimiento de las vides en conjunto con la fertilización química.

Para comprobar dicha hipótesis se ha planteado el siguiente objetivo general: “Evaluar el efecto del fertilizante químico, inóculo microbiano y compost en las variables agronómicas asociadas con el crecimiento de tallo de la vid variedad *Thompson seedless* a través de índices químicos, enzimáticos y microbiológicos”.

Los objetivos específicos fueron:

Evaluar el efecto del compost, fertilizante químico e inóculo microbiano sobre el crecimiento de la vid variedad *Thompson seedless* a través de los análisis enzimáticos de la actividad deshidrogenasa, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina y  $\beta$  glucosidasa.

Determinar a partir del suelo de las plantas en estudio los indicadores químicos como la concentración de nitrógeno y fósforo disponible, junto con la conductividad eléctrica, el pH y la materia orgánica, tras la aplicación del fertilizante químico, inóculo microbiano y compost.

Determinar la concentración de los microorganismos proteolíticos, amilolíticos, hongos y levaduras en el suelo, como indicadores de calidad tras la aplicación de compost, fertilizante químico e inóculo microbiano.

## 2. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1 - Uva de mesa. Concepto y desarrollo

La vid es una especie de la familia Ampelidáceas, del género *Vitis vinifera* L. originaria de regiones meridionales del mar del Caspio. Se caracteriza fenotípicamente por ser un arbusto sarmentoso, cuyas ramas tienden a fijarse como sarcillos, de tallo tortuoso con corteza desfoliable y de hojas dísticas, enteras, tri o quinquelobadas (Palma, 2006).

**2.1.1 Importancia y productividad de la uva de mesa.** En Chile, se estima que la productividad promedio de uva de mesa es 14,4 ton/ha, destinándose 847.681 toneladas para exportación (Costabal, 2010). Además, Chile controla el 92% del mercado comprador coreano, el 76% de Estados Unidos, el 60% de China, el 27 % del holandés y en cantidades menores participa en el mercado de Bélgica (9%) Alemania (8%) y Francia (5%) (Bravo, 2010).

La variedad *Thompson seedless* se destaca por sobre el resto de variedades de uvas por su mayor exportación a mercados como Estados (129.905 toneladas) y Europa (81.243 toneladas), además de cubrir el 27% de las exportaciones de uva de mesa, seguida por *Red globe* con un 22% y *Crimson seedless* con 18% (Costabal, 2010).

**2.1.2 Requerimientos agronómicos de la uva de mesa.** La uva de mesa no tiene un tipo de suelo específico para su cultivo, por ello abarca una gran extensión territorial y climática en el país. Sin embargo, se han detectado algunas necesidades nutritivas básicas para el cultivo de la

vid a nivel general. Entre estas destaca principalmente los requerimientos de Nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), secundariamente se conoce la necesidad de azufre (S), Calcio (Ca) y magnesio (Mg) y finalmente los micronutrientes donde se encuentran el Hierro (Fe), manganeso (Mn), cobre (Cu) y zinc (Zn), entre otros. Para una producción de 25 ton/ha de uva se necesitan 96 Kg/ha de N, 9,7 Kg/ha de P y 88 Kg/ha de K (Sierra, 2001).

Para prevenir alteraciones fenotípicas en la vid se estima que el suelo en el cual se cultiva, debe tener una relación C/N entre 10-12, 10,1-14 cmol/Kg de Ca, 1,6-2,5 cmol/Kg de Mg y un 2,6 a 3,5% de materia orgánica (Sierra, 2001), lo que indica que la calidad química del suelo es importante para mantener un cultivo con rendimientos que permitan obtener producciones de calidad exportable, sana y rentable económicamente.

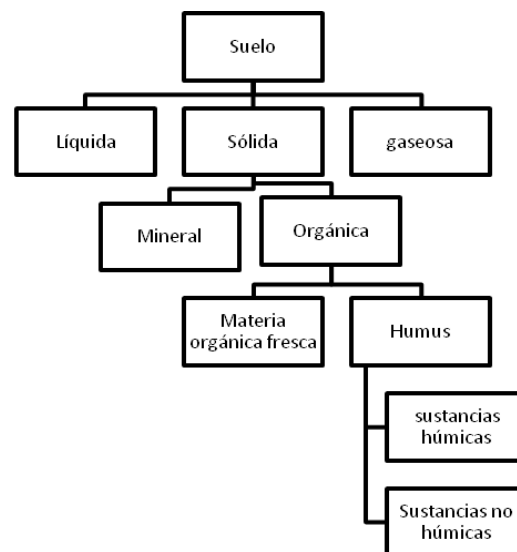
## **2.2 Importancia del sistema suelo para el cultivo de la vid.**

El suelo se define como un manto meteorizado que contiene materia orgánica, minerales y nutrientes que apoyan el crecimiento vegetal (Sylvia *et al.*, 2005). La vida en el suelo es posible por la presencia de los componentes de su estructura que al unirse crean espacios (poros, huecos de empaquetamiento, canales, cámaras y fisuras), muchos de los cuales se comunican entre sí y permiten la transferencia de fluidos como el aire y el agua, esenciales para la actividad microbiana y el crecimiento de las raíces (Porta *et al.*, 2003).

La composición del suelo consta de 3 partes, líquida, gaseosa y sólida. La parte líquida es el agua que rodea la fase sólida, por lo tanto su composición depende directamente de ella. La importancia de la fase líquida reside en que la planta se alimenta a través de ella (López y López, 1990).

En la fase gaseosa debemos mencionar la aireación del suelo, ya que de esta depende la eficacia del intercambio de gases entre el suelo y la atmósfera. En esta fase se encuentra el oxígeno, cuya presencia resulta imprescindible para la respiración de raíces y la actividad de los microorganismos aerobios que viven en el suelo (Porta *et al.*, 2003).

La parte sólida está formada por una parte mineral y otra orgánica, la primera está compuesta por partículas de composición, formas y tamaños muy diversos, en cambio la parte orgánica abarca residuos de vegetales y animales en distinto grado de descomposición (Sylvia *et al.*, 2005), siendo estos componentes de gran importancia por su influencia en la estructura, capacidad de retención de agua y nutrientes. El constituyente orgánico de la parte sólida está formado por materia orgánica fresca y humus, como se esquematiza en la figura 1.



**Figura 1.** Composición del suelo (Fuente. Composición personal)

El humus, está constituido por sustancias húmicas y no húmicas. Las primeras son el resultado de la desnaturalización y desorganización química provocada por los cambios en la funcionalidad de los productos sintetizados tanto por las plantas como por los microorganismos. Las sustancias no húmicas están integradas por materias organizadas como azúcares, aminoácidos, polisacáridos

y proteínas que poseen una composición química definida (Porta *et al.*, 2003). El humus es muy estable y el periodo de su degradación comprende desde los 5 a los 2000 años, su fraccionamiento se realiza mediante la extracción con álcalis y por métodos de fraccionamiento por cromatografía, obteniéndose la fracción de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas (Stevenson, 1982; Qualls *et al.*, 2003).

Por su parte, la materia orgánica fresca está integrada por restos vegetales de la parte foliar senescente y raíces como también de las deyecciones y secreciones de los animales; además, esta fracción constituye una fuente de energía tanto para las comunidades saprofitas que la consumen como también para la biomasa microbiana (Porta *et al.*, 2003).

La materia orgánica favorece la calidad del suelo al influir en varios aspectos de las propiedades del mismo, por un lado mejora sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Cuadro 1), y también participa en las interacciones del funcionamiento biogeoquímico de los ecosistemas (Julca- Otiniano *et al.*, 2006), por ejemplo en la mineralización del nitrógeno y del fósforo, sin embargo, toda esta actividad se ve mediada por distintos factores ambientales como pueden ser el nivel de vegetación, el clima, los organismos del suelo y el laboreo, entre otros.

**Cuadro 1.** Efectos de la adición de enmiendas orgánicas en el suelo.

<b>Propiedad</b>	<b>Efecto de la adición de materia orgánica</b>
Física	Reduce la erosión y la evaporación
Química	aumenta el poder tampón
	mantiene reservas nutritivas
Biológica	Regula la actividad microbiana
	modifica la actividad enzimática

Fuente: Porta *et al.*, 2003

La aplicación de materia orgánica en Chile a la uva de mesa se realiza en forma de guano de ave y res, como también se aplica compost “*In situ*” proveniente de la poda de las vides, demostrándose un aumento en el rendimiento y en la calidad de la fruta tras 2 o 3 años de su aplicación (Palma, 2006).

Actualmente se aplica compost en cultivos de uva de mesa en la viña Undurraga, donde se han implementado instalaciones para la elaboración de compost a partir de orujo y escobajo de uva, generando alrededor de 800 toneladas por temporada, con un porcentaje de materia orgánica que oscila entre un 69 y 80% (Viña Undurraga, 2003).

Trabajos de investigación, han demostrado diversos efectos del compost en el suelo, por ejemplo un efecto negativo de la aplicación de compost de orujo de uva, es que provoca inmovilización de nitrógeno (Flavel *et al.*, 2005), por otra parte Paradelo *et al.* (2009) demostró el efecto positivo en la disponibilidad de nutrientes con el compost de “orujo de uva” aplicado.

Para la aplicación de compost en Chile, se debe cumplir con los requisitos necesarios para su producción, como también con los parámetros y métodos analíticos definidos para el compost y el material compostable a aplicar establecidos en la norma chilena NCh 2880/04 de compostaje, la cual establece los requisitos y clasifica los compost de acuerdo a su nivel en compost Clase A y Clase B (Franco y Urzúa, 2006).

La norma chilena NCh 2880/04 de compostaje señala que el compost clase A corresponde a un “producto de alto nivel de calidad que cumple con las exigencias establecidas en esta norma, además debe cumplir con las concentraciones máximas de metales pesados (Anexo 1). Su conductividad eléctrica debe ser menor a 3dS/m y su relación C/N debe ser menor o igual a 25.



Este producto no presenta restricciones de uso,” debido a que ha sido sometido a un proceso de humificación. Se caracteriza porque puede ser aplicado directamente a macetas y sin necesidad de que sea previamente mezclado con otros materiales (Franco y Urzúa, 2006).

El compost clase B es un “producto de nivel de calidad intermedio, que cumple con las exigencias establecidas en esta norma para este tipo de compost, también debe cumplir con las concentraciones máximas de metales pesados (Anexo 1). Su conductividad eléctrica debe ser menor a 8 decisiemens por metro (8dS/m) y su relación C/N debe ser menor o igual a 30. Este producto presenta algunas restricciones de uso,” ya que para su aplicación a macetas, requiere ser mezclado con otros elementos adecuados (Franco y Urzúa, 2006).

La búsqueda de disminuir la cantidad de productos químicos en los diferentes cultivos, en este caso de la vid, ha llevado a realizar ensayos con compuestos naturales como es el compost, así también existe la alternativa del uso de inoculantes microbianos o biofertilizantes, los cuales deben cumplir con determinados requisitos para su aplicación y evitar cualquier daño al suelo y con ello al ecosistema.

### 2.3 Uso de inóculos microbianos en Chile

Junto con el uso de los residuos vegetales y animales como una forma de mejorar la calidad del suelo, también existe la alternativa del uso de microorganismos ya sean de bacterias u hongos que tengan una importante actividad biológica en el suelo, los cuales se conocen como inóculos microbianos.

Un inóculo microbiano se define como una formulación que contiene un conglomerado de microorganismos en un sustrato o carrier ya sea de naturaleza orgánica o inorgánica que tiene un efecto positivo en el crecimiento o desarrollo de una determinada especie vegetal (Martínez *et al.*, 2010). Este efecto se produce a través de distintos mecanismos como son la producción de enzimas hidrolíticas, antibióticos, sideróforos y de compuestos volátiles como el etileno (Compant *et al.*, 2005).

La aplicación de inoculantes de tipo microbiano en Chile no es una práctica habitual y no se ajustan a estándares internacionales, ya que no existe control de calidad de dichos productos, salvo su registro, siendo el Servicio Agrícola Ganadero (SAG) el encargado de la reglamentación, normativa y orgánica de la agricultura chilena.

El uso de biofertilizantes para fines agrícolas en Chile, se encuentra restringido prácticamente solo al género *Rhizobium* para leguminosas de grano y forrajeras, ya que en Chile no hay empresas que asuman la responsabilidad de producción de biofertilizantes, por lo cual su acceso es restringido, limitándose a aquellos producidos en el extranjero, además cabe destacar que en Chile hay una baja cantidad de biofertilizantes de calidad probados en el país (Parada, 2005).

Sin embargo, cualquier compuesto que se utilice en los diferentes cultivos debe cumplir con los requisitos de calidad y sanidad, para el suelo, el ambiente y especialmente para el cultivo, por ello es importante la evaluación de los productos que se aplican y conocer sus efectos en el suelo, de manera de no perjudicar la calidad del mismo.

#### **2.4 Indicadores de calidad de suelo**

La calidad de suelo se puede ligar al concepto de funcionalidad del ecosistema ya que conecta los componentes y procesos biológicos, químicos y físicos. Este concepto debe ser asociado a la producción y fertilidad y definirse como “la capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites ecológicos, como también para sostener la productividad biológica manteniendo la calidad ambiental y promover la salud de la flora y fauna”. La habilidad que tiene el suelo de sostener la productividad biológica, soportar la funcionalidad ecosistémica y mantener el balance biofísico está íntimamente relacionada con la calidad de suelo. También se sostiene que esta debe ser evaluada en base a la regulación de los ciclos biogeoquímicos, de los flujos hidrológicos y la productividad (Doran y Parkin, 1994).

Se necesita una apropiada selección de indicadores de calidad que ofrezcan una rápida respuesta al cambio, discriminación entre los sistemas de manejo, mayor sensibilidad al estrés y a la restauración ambiental (Navarrete *et al.*, 2011). Entre los requisitos para ser un indicador de calidad de suelo, podemos mencionar: que sean fáciles de evaluar, que midan cambios en las funciones del suelo, que abarquen propiedades físicas, químicas y biológicas, que sean accesibles a los evaluadores y que sean sensibles a las variaciones climáticas y de manejo.

La calidad del suelo se basa en sus propiedades dinámicas, como es la materia orgánica, la cantidad de nutrientes y la diversidad de los organismos o microorganismos en un tiempo determinado y se mide a través de la productividad del sistema, la capacidad de atenuar la presencia de contaminantes ambientales y patógenos y su forma de favorecer la salud de las plantas, animales y humanos.

La cantidad de materia orgánica del suelo es un índice de calidad, sin embargo, las modificaciones que ésta presenta en el suelo son demasiados lentos o a largo plazo, lo que ha llevado a priorizar aquellos índices de calidad que son más rápidos, como son los químicos, enzimáticos y microbiológicos (Bautista *et al.*, 2004).

**2.4.1 Indicadores químicos.** Entre las propiedades químicas propuestas como indicadores de calidad se encuentran aquellas que tienen relación entre la planta y el suelo, como son la capacidad amortiguadora del suelo y la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Navarrete *et al.*, 2011). Investigadores como Doran y Parkin (1994), propusieron como indicadores a la materia orgánica, el pH, la conductividad y al N y P disponibles, siendo estos además indicadores de fertilidad. Estas propiedades pueden ser beneficiadas con la aplicación de compost, por ejemplo el estudio realizado por Paradelo *et al.* (2009) demuestra que el compost proveniente de orujo de uva aumenta la cantidad de nitrógeno, fósforo y carbono de acuerdo a la dosis de materia orgánica aplicada bajo condiciones de laboratorio.

El nitrógeno (N) se caracteriza por ser un elemento que se encuentra en la naturaleza en distintos grados de oxidación. Se encuentra mayoritariamente en la atmósfera en forma de N<sub>2</sub> con un triple enlace, por ello se necesita una alta energía para su ruptura, la cual se puede conseguir bajo el mecanismo de descarga eléctrica y fijación fotoquímica (Martínez *et al.*, 2010). También el N<sub>2</sub> se encuentra involucrado en reacciones de oxidación y reducción microbiana o química,

además, de ser uno de los constituyentes de aminoácidos y proteínas de estructuras celulares en plantas y microorganismos.

Las formas disponibles de nitrógeno para las plantas se encuentran en forma de amonio y nitrato, los cuales pueden ser absorbidos por sus raíces, estando este proceso influenciado por la actividad microbiológica que hay en el ciclo del nitrógeno (Geisseler *et al.*, 2010). El Amonio es el producto de la mineralización de la materia orgánica en el ciclo del nitrógeno y el nitrato de la nitrificación. El amonio sin embargo, se puede volatilizar en forma de amoniaco bajo ciertas condiciones ambientales y el nitrato se pierde por lixiviación o volatilizado al ambiente en forma de N<sub>2</sub> o N<sub>2</sub>O (Martínez *et al.*, 2010).

El fósforo disponible también corresponde a un indicador porque es fundamental para la nutrición de las plantas, este elemento es absorbido en forma de fosfato mono y diácidos, pero a diferencia de otros nutrientes este es poco móvil, por su tendencia a reaccionar con otros elementos como hierro y aluminio a pH ácido y con calcio a pH alcalino dando lugar a formas fosfatadas no disponibles. Este nutriente es una de las claves en el metabolismo de la energía y la biosíntesis de ácidos nucleicos y membranas plasmáticas (Raghothama, 1999), que además se caracteriza porque tiende a dar calidad y crecimiento vegetativo.

La disponibilidad de fósforo está ligada a la actividad microbiológica, ya que los microorganismos participan activamente en la solubilización y en la mineralización del fósforo orgánico, mediado por la actividad enzimática fosfatasa y la producción de ácidos por parte de los microorganismos del suelo, lo cual aumenta la solubilidad del fósforo a partir de sus formas no disponibles en el ecosistema haciéndolo más accesible a otros organismos (Martínez *et al.*, 2010).

El pH se caracteriza por ser un factor determinante en la disposición de nutrientes para el crecimiento de plantas y para la biomasa microbiana, por lo cual es un reflejo de la actividad química y biológica (Coyne, 2000). La acidez y la basicidad del suelo afectan las propiedades físicas, como la estructura, la porosidad y la aireación, afectando además la descomposición de la materia orgánica y adsorción de aniones como sulfatos y fosfatos (Palma, 2006).

Por otra parte la conductividad eléctrica se encuentra asociada a la medición de nutrientes solubles y a la actividad biológica del suelo, siendo 1,7 dS/m el valor umbral crítico de sales para la uva de mesa y con ello de disponibilidad de agua para las raíces (Sierra, 2001), esta disponibilidad permite prevenir un desbalance nutricional que afecte fenotípicamente las plantas (Palma, 2006).

**2.4.2 Indicadores enzimáticos.** Existen enzimas del suelo constitutivas e inducibles de acuerdo a la presencia y cantidad del sustrato, su origen se encuentra ligado a microorganismos y raíces de plantas. Luego de ser sintetizadas, pueden ser acumuladas, inactivadas o descompuestas en el suelo jugando un rol esencial en el cultivo (Makoi y Ndakidem, 2008).

Se ha dado importancia a la actividad enzimática como indicador de calidad de suelo ya que refleja las reacciones bioquímicas que suceden dentro de un ambiente heterogéneo, lo cual está estrechamente relacionado con la disponibilidad de nutrientes, degradación de materia orgánica e identificación de suelo (Kumar Das y Varma, 2011). Esto conlleva a que las enzimas sean altamente sensibles a cambios positivos y negativos de los procesos que ocurren en el suelo (Cerón y Malgarejo 2005). Por ejemplo, el estudio realizado por Crecchio *et al.* (2004) muestra un aumento de la actividad enzimática de deshidrogenasa,  $\beta$  glucosidasa y fosfatasa con la aplicación de compost proveniente de residuos urbanos, por otra parte Lichner *et al.* (2007)

demonstró que el compost aumenta la actividad enzimática de las fosfatasas,  $\beta$  glucosidasa y deshidrogenasa.

La deshidrogenasa es una enzima intracelular y se considera como un indicador de calidad de suelo porque refleja la actividad de microorganismos fisiológicamente activos, además aparentemente posee un rol en la oxidación de la materia orgánica (Martínez *et al.*, 2010). Su acción es dependiente de la concentración de oxígeno y presión (Brzezinska *et al.*, 2001), como también de las sustancias presentes en el suelo, ya que su actividad es inhibida por los fungicidas comerciales siendo correlacionada negativamente con alguna de sus dosis (Jastrzêbska y Kucharski, 2007). El estudio realizado por Romero *et al.*, (2010) indica que la aplicación de materia orgánica proveniente de orujo de uva aumenta la actividad enzimática de deshidrogenasa, lográndose su mayor actividad durante los primeros días.

La  $\beta$  glucosidasa es una enzima extracelular excretada en la solución del suelo y puede ser inmovilizada en arcillas o humus. Esta enzima cataliza la degradación de la celulosa, produciendo la glucosa que necesitan las plantas y microorganismos como fuente energética. Su actividad disminuye con el aumento de la profundidad del suelo (Ma *et al.*, 2010) y se correlaciona positivamente con las concentraciones de arcilla, carbono y nitrógeno total (Turner *et al.*, 2002). Esta enzima da indicios tempranos de la degradación de suelos por prácticas agrícolas, como también puede dar el reflejo de la actividad biológica pasada, de la capacidad productiva del suelo, de la estabilización de la materia orgánica y además puede ser usada para detectar manejos de suelo (Makoi y Ndakidemi, 2008).

Por su parte la fosfatasa es una enzima extracelular de origen vegetal y microbiológica que cataliza la hidrólisis de esterres y de anhídridos de  $H_3PO_4$ , (Criquet *et al.*, 2004). Las fosfatasas son responsables de la mineralización orgánica del fósforo en el suelo y de su liberación para las plantas y los microorganismos (Martínez *et al.*, 2010). Su actividad aumenta en casos de baja

cantidad de fósforo y disminuye con la profundidad del suelo, siendo su máxima actividad entre los 0 y 20 cm de profundidad (Samuel *et al.*, 2010). La actividad fosfatasa ha sido correlacionada positivamente con el carbono orgánico y negativamente con la calidad del humus (Šarapatka, 2003) y al igual que la actividad deshidrogenasa también es inhibida por fungicidas comerciales (Jastrzêbska y Kucharski, 2007).

**2.4.3 Indicadores microbiológicos.** Otro tipo de indicador ampliamente utilizado son los microorganismos, los cuales son excelentes indicadores de calidad porque reflejan tempranamente la degradación o mejoría en suelo. Doran y Parkin (1994) seleccionaron como indicadores el C y N de la biomasa microbiana y la respiración del suelo, siendo propiedades altamente sensibles. La primera refleja el potencial microbiano catalítico, el depósito de C y N y los cambios tempranos en el manejo agrícola, la respiración en cambio nos indica la dinámica de la biota del suelo y por lo tanto de los procesos metabólicos que se llevan a cabo en ella, variando estos debido a factores ambientales y físicos del suelo (Alexander, 1980).

La actividad microbiológica del suelo juega un rol importante en la sustentabilidad y en las propiedades como fertilidad y estructura. Algunos factores que influyen en su actividad son el pH, la temperatura, el oxígeno, la disponibilidad de nutrientes, la materia orgánica, la adición de pesticidas y la presencia de metales pesados (Subhani *et al.*, 2001). La actividad microbiológica también puede verse afectada por la aplicación de sustancias como fertilizantes y materia orgánica, por ejemplo el estudio realizado por Hu y Cao (2007), demuestra a través de la respiración microbiana, que la actividad microbiológica aumenta con la aplicación del compost.

Algunos microorganismos asociados a las vides según el estudio realizado por Compant *et al.* (2011) son *Pseudomonas sp*, *Pseudomona fluorecenes*, *Pseudomona cannabina*, *Bacillus sp*,



*Bacillus pumilus*, *Paenibacillus lautus*, *Arthrobacter sp*, *Variovorax paradoxus*, *Rhodococcus sp*, en ellas.

En la rizósfera del suelo existe una gran variedad de microorganismos, donde se encuentran aquellos que cumplen con una función amilolítica, que se relacionan con la producción de enzimas que hidrolizan el almidón, el cual se caracteriza por ser un compuesto complejo formado por monómeros de glucosa, siendo dicha actividad una de las protagonistas del ciclo del carbono. Las enzimas que participan en su degradación son  $\alpha$  amilasas,  $\beta$  amilasas, glucoamilasa y glucosa isomerasa, entre otras (Martínez *et al.*, 2010). La enzima de mayor interés es la amiloglucosidasa, la cual es capaz de romper todos los enlaces de la molécula de almidón (Sánchez *et al.*, 2005).

Otro grupo de microorganismos que se encuentra en el suelo son los proteolíticos, que cumplen una función esencial en la disponibilidad de nitrógeno y carbono para los microorganismos, siendo asociados con la degradación de proteínas que provienen de la mineralización de la materia orgánica, en dicha reacción ocurre la formación de compuestos intermedios como agua, sulfatos, amoníaco y dióxido de carbono. La hidrólisis se relaciona con la acción de proteasas, las cuales se clasifican en 2 tipos: Metaloproteasas neutras y proteasas serinas, las cuales se pueden encontrar en microorganismos y se caracterizan por ser del índole extracelular (Mrkonjic *et al.*, 2008). Ejemplos de microorganismos proteoliticos son *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis* (Bach *et al.*, 2002).

Los hongos por su parte se caracterizan por tener un cuerpo vegetativo llamado talo y pueden presentarse como células quitridiales, levaduriformes y miceliales; presentan formas filamentosas de crecimiento para colonizar sustrato y espacio (Sylvia *et al.*, 2005) e igualmente presentan una gran batería enzimática para la degradación y descomposición de moléculas complejas vegetales para la transformación de materia orgánica (Alexander, 1980). Las divisiones Ascomycota y Basidiomycota participan en la descomposición de la celulosa (30-50% de la materia seca de la

planta), porque tienen un sistema extracelular de enzimas celulasas como son la endoglucanasa, exoglucanasa y  $\beta$  glucosidasa que dan a lugar a moléculas de glucosa, los hongos presentan sistemas celulíticos similares a las bacterias lo cual provoca una competencia por el sustrato.

Los hongos también realizan la degradación de hemicelulosa y lignina que se caracterizan por su complejidad química. El crecimiento de las hifas de hongos tiene acceso a los poros de la pared celular, por lo cual se le asocia a sustratos complejos, a diferencia de las bacterias (De Boer *et al.*, 2005). Además, los hongos juegan un papel esencial en la agregación y estructura del suelo, debido a la presencia de sustancias cementantes (Borie *et al.*, 2008).

Las levaduras son capaces de interactuar con factores abióticos y bióticos presentes en el ecosistema del suelo. El primer factor se refiere principalmente a que las levaduras influyen en la formación de los agregados del suelo y en el mantenimiento de su estructura. En cuanto a su relación con los factores bióticos, estas sirven como fuente de nutrientes para las bacterias y hongos saprofitos. Las levaduras también se relacionan con los ciclos del azufre y del nitrógeno, además tienen la capacidad de solubilizar fosfatos insolubles. En la actualidad se están estudiando por su capacidad de promover el crecimiento vegetal (Botha, 2011).

### 3.- MATERIALES Y METODOS

#### 3.1- Materiales e infraestructura

**a.- Infraestructura.** La investigación fue realizada durante la temporada de verano-otoño del año 2011 en las dependencias del Laboratorio de Suelo, Planta, Agua y Ambiente (CATA) del Departamento de Industrias de la Universidad Técnica Federico Santa María, ubicada en la comuna de Vitacura, Santiago, Región Metropolitana. Para los ensayos de plantas se utilizó el invernadero que posee dicho laboratorio y que se encuentra ubicado en la misma Universidad. Además se hizo uso de un patio interno, donde se dispusieron las plantas durante el periodo de verano.

**b.- Material vegetal.** La especie vegetal utilizada fueron plantas de uva de mesa de la variedad *Thompson seedless*, de procedencia comercial y con tallo injertado, con un patrón fenotípico similar y de aproximadamente 12 meses de edad, las cuales se encontraban en un sustrato de tierra de hojas. Las plantas se acomodaron en macetas de 40 litros.

**c.- Material microbiológico.** Como inoculante, se empleó una combinación de cepas de microorganismos nativos de los géneros *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Sphingomonas* y *Brevundimonas*, aislados de suelos con cultivos de uva pisquera. Esta presentaba un recuento de  $1.1 \times 10^{11}$  UFC/g. Para el ensayo se utilizó este inóculo en una concentración de 10% en agua destilada (UTFSM, CATA Lab 2011).

**d.- Sustratos.** Para las macetas se empleó suelo de textura arenosa seleccionado de acuerdo al nivel de materia orgánica (0,18%) obtenido de un campo ubicado en las coordenadas 33° 7' 1,48" sur y a 70° 48' 57" oeste de la Región Metropolitana. El compost empleado fue proporcionado por la empresa Agrícola Bauzá, ubicada en la Región de Coquimbo y producido a partir de orujo y escobajo de uva pisquera. Para el ensayo se realizó una aplicación inicial de 2 kg de compost por maceta (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Características químicas de los sustratos.

Parámetro	Suelo inicial	Compost
pH	8,1	8,12
Conductividad (dS/m)	0,08	0,88
Materia Orgánica (%)	0,18	45,65
C/N		10,60
K (meq/100g)	0,58	46,52
Na (meq/100g)	0,30	1,14
Ca (meq/100g)	15,97	21,07
Mg (meq/100g)	2,34	12,29
Fe (mg/kg)	3,58	67,52
Mn (mg/kg)	2,51	144,91
Zn (mg/kg)	0,28	12,28
B (mg/kg)	1,03	5,67
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	9,6	303
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/kg)	5,4	50,4
N disponible Total	15	353,4
P Olsen (mg/kg)	8,9	55,6

Fuente: CATA-Lab. 2011

**e.- Fertilizante químico.** Para la fertilización se utilizaron 20 gramos de sulfato de amonio\* (Novatek 21), 150 ml de ácido fosfórico 1% y 10 gramos de sulfato de potasio por maceta. Por las características químicas del suelo (Cuadro 2), se aplicaron a cada maceta 14 ml de Zinc en

polvo previamente disuelto en agua destilada a 3 cm de profundidad con respecto a las raíces de la planta, para suplir la deficiencia de este nutriente y favorecer el crecimiento de la planta.

### 3.2 Métodos

**3.2.1 Diseño experimental.** Para realizar el estudio se plantearon 8 tratamientos (Cuadro 3) con el propósito de evaluar el efecto químico, bioquímico y microbiológico a partir de la aplicación de 2 Kg de compost, 400 ml de inóculo microbiano de un recuento correspondiente a  $1.1 \times 10^{11}$  UFC/g diluido al 10% y 1 litro de fertilizante mineral por 40 kg de suelo. Cada tratamiento se realizó con 4 repeticiones distribuidas completamente al azar. La aplicación del compost se realizó por una única vez al inicio del trabajo. La aplicación del fertilizante químico y el inoculante microbiano fueron realizados 1 vez por semana durante 6 semanas.

**Cuadro 3.** Descripción de tratamientos del ensayo de uva de mesa, en macetas realizado bajo condiciones controladas en la temporada verano- otoño 2011 en Santiago.

Tratamiento	Descripción	Fertilización (ml)	Compost (Kg)	Inoculante (ml)
1	Compost + inóculo+ Fert. química	1000	2	400
2	Compost+ Fert. química	1000	2	0
3	Compost + inóculo	0	2	400
4	Inóculo + Fert. química	1000	0	400
5	Inóculo 100%	0	0	400
6	Compost 100%	0	2	0
7	Fertilización química	1000	0	0
8	Control absoluto	0	0	0

**3.2.2. Evaluaciones.** A las plantas se les determinaron las variables agronómicas y a los suelos se les realizaron los análisis para determinar las variables químicas, enzimáticas y microbiológicas. Se realizaron dos registros de datos, una al inicio del ensayo la cual fue considerada como tiempo cero y luego otra medición al final del ensayo. El ensayo tuvo una duración de 4 meses.

**3.2.2.1 Medición Variables agronómicas.** La altura de planta se evaluó en centímetros utilizando una huincha de medición y el diámetro de tallo en centímetros (cm).

**3.2.2.2 Variables químicas.** Estas corresponden a pH, Conductividad, nitrógeno y fósforo disponible y materia orgánica.

La medición del pH y la conductividad eléctrica se realizó a través del método potenciométrico y conductimétrico respectivamente, para lo cual se consideró una suspensión de suelo: agua, relación de 1:2,5; agitada a 120 rpm por 10 minutos y se dejó reposar por una hora para su medición (Sadwaska, 1990).

La cuantificación de nitrógeno (N) se realizó a través de la medición de amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ) y nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) en base al método Azul de Indofenol y de reducción de zinc respectivamente, ambas mediciones de basaron en la solución de extractable de KCl 2N (Mulvaney, 1996).

Para la medición de amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ) se agregó 1ml de reactivo de color (80g Salicilato de sodio, 1g nitrofenilcianuro en 1 L de reactivo de mezcla compuesto por 28g tartrato de sodio y

potasio, 29 g citrato de sodio y 80g hidróxido de sodio en 1L de agua destilada) y 1 ml de solución de cloro a 1 ml de cada estándar o extracto de suelo. Esta solución se incubó durante 45 minutos para la formación de color azul indofenol, luego se agregaron 20 ml de agua destilada y se esperaron 15 minutos para su lectura espectrofotométrica a 655 nm. Para obtener la concentración, se utilizó una curva de calibración de 1, 2.5, 5, 10 y 20 ppm.

Para la medición de nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) se agregaron 1,5 g de Zinc granular y 2 ml de buffer a pH: 8.5 (40g cloruro de amonio y 0,4 g  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  en 1 L de agua destilada, ajustando a pH 8,5 con  $\text{NH}_4\text{-OH}$ ) a 1 ml de cada estándar o extracto de suelo. Luego de 15 minutos de incubación se extrajo 1 ml de cada solución reducida y se le adicionaron 10 l de agua destilada y 1 ml de reactivo de color (100 ml  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 40 g sulfamida y 1g N-1-maftletilandiamina dihidrocloruro en 1L de agua destilada), luego de ello se esperaron 15 minutos para la formación del color rosado y realizar su lectura espectrofotométrica a 540 nm. Los valores obtenidos fueron ajustados según la curva de calibración de 1, 2.5, 5, 7.5 y 10 ppm de concentración.

Para la medición de fósforo disponible (P), se utilizó el método de P Olsen, donde se utiliza como solución extractante el  $\text{NaHCO}_3$  0.5M a pH: 8,5. Luego de obtener el extracto, se toman 3 ml de solución, para adicionarle 3 ml de reactivo B compuesto por 1,056g de ácido ascórbico con 200 ml de reactivo A (12g de molibdato de sodio disueltos en 250 ml de agua destilada, 0,2743g tartrato de  $\text{K}_4$  y antimonio disueltos en 200 ml de agua destilada, ambas soluciones mezcladas con 1L de ácido sulfúrico 5N y aforando esta solución a 2L con agua destilada). Luego se incubó durante 1 hora para finalmente realizar la medición espectrofotométrica a 880 nm y ajustar las concentraciones con la curva de calibración de 0.5, 1, 1.5, 2.0 y 2.5 ppm respectivamente (Sadzawka *et al.*, 2006).

La medición del porcentaje de materia orgánica se realizó en base al método de oxidación por dicromato descrito en Sadzawka *et al.* (2006).

**3.2.2.3 Metodología utilizada para la evaluación de las variables enzimáticas.** Estas variables correspondieron a la fosfatasa ácida y alcalina,  $\beta$  glucosidasa y deshidrogenada.

La actividad fosfatasa ácida y alcalina (acUP y alkUP) se analizó mediante el método de *para*-nitrofenol. Para su medición se utilizó 1 g de suelo y se le adicionó 1 ml de *p*-nitrofenil fosfato 0.05 M (PNP), 0,2 ml de tolueno y 4 ml de buffer universal modificado (MUB) con un pH 6,5 para ácidas y 11 para alcalinas, luego de ello se incubaron las muestras a 37° C y 150 rpm, enseguida se le adicionó 1 ml de CaCl<sub>2</sub> 0.5 M y 4 ml NaOH 0.5 M para después filtrar la solución y proceder a su lectura a 400. Los valores se ajustaron a la curva de calibración de 2, 4, 6, 8 y 10  $\mu$ g (Nannipieri *et al.*, 1980).

De forma similar se midió la actividad  $\beta$  glucosidasa. Para su medición se utilizó 1 g de suelo y se le adicionó 1 ml de sustrato de reacción el *p*-nitrofenil- $\beta$ -D glucopironosido (PNG) 0.05 M, 0,2 ml de tolueno y 4 ml de buffer MUB a pH 6, luego de ello se incubaron las muestras durante 1 hora a 37°C y 150 rpm, después se le adicionaron 4ml buffer THAM pH 12 y 1 ml CaCl<sub>2</sub> 0.5 M a las muestras, enseguida se filtraron las muestras y se midieron las absorbancias a 400 nm. Los valores se ajustaron a una curva de calibración de 2, 4, 6, 8 y 10  $\mu$ g para determinar su concentración (Nannipieri *et al.*, 1980).

Para la determinación de la actividad deshidrogenasa se pesaron 6 g de cada muestra de suelo y se le agregaron 0,06 g CaCO<sub>3</sub>, 1 ml de sustrato cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC 3%) y 2,5 ml de agua destilada. La solución se incubó durante 24 hrs a 37° C, para finalmente realizar su lectura espectrofotométrica a 485nm (UDH) tras lavados con 15ml de etanol (Acosta y Paolini, 2005).



**3.2.2.4 Procedimiento realizado para el análisis microbiológico.** Consistió en el recuento de microorganismos proteolíticos, amilolíticos, levaduras y hongos. Para realizar la estimación de número de microorganismos se usó la técnica del recuento en superficie en placa Petri, con éste propósito se realizaron diluciones seriadas en solución salina al 0,85% de NaCl, tras ello se sembraron 0,1 ml en la placa correspondiente (Sylvia *et al.*, 2005).

Para realizar el recuento de proteolíticos se utilizó Agar Leche, en estas se contaron aquellas colonias que presentaban un halo de hidrólisis en su circunferencia. En el caso de los amilolíticos, las colonias se detectaron al agregar lugol al cultivo de Agar Almidón y la cuantificación de hongos y levaduras se realizó en el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (Martínez *et al.*, 2010).

**3.3 Análisis estadístico.** La comparación de medias se realizó utilizando el programa estadístico SPSS versión 11.5 (Ruiz y Pardo, 2002) con diseño de bloques completos al azar con covariable para detectar la diferencia de medias, disminuyendo la posibilidad de error experimental, utilizando como factor de bloqueo cuantitativo, la muestra inicial, excepto para el análisis de porcentaje de materia orgánica y de diferencia de altura de tallo, para lo cual se realizó el análisis de Anova sin covariable. Se realizó la prueba de Tukey o Scheffé dependiendo de la prueba de homocedasticidad. Con el fin de evaluar las posibles correlaciones entre las variables asociadas en suelo, se realizó el análisis de correlación de Pearson con 32 muestras.

#### 4.- PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

De los resultados obtenidos tras la aplicación de fertilizante químico, además de compost e inoculante como mejoradores de calidad de suelo en los tratamientos propuestos, se observa que hay tratamientos en los cuales hay diferencias estadísticamente significativas en algunos parámetros de calidad de suelo a nivel enzimático, químico y microbiológico, lo cual se ha reflejado en el crecimiento y la disponibilidad de nutrientes esenciales para las vides.

Agronómicamente se observaron diferencias estadísticamente significativas en la altura de tallo (Cuadro 4), esto principalmente como consecuencia de la disponibilidad de nutrientes.

**Cuadro 4.** Cuadro de comparación de medias entre las variables altura de tallo y diámetro de tallo, que corresponden a las variables agronómicas evaluadas.

Tratamientos		Altura tallo (cm)	Diámetro tallo (cm)
1	C+ I+ F	55,50 ab	0,50
2	C+ F	78,00 ab	0,53
3	C+ I	57,50 ab	0,50
4	I+ F	85,75 a	0,57
5	I	41,67 b	0,46
6	C	59,00 ab	0,47
7	F	76,75 ab	0,62
8	Control	45,25 b	0,55

a, b y c indican diferencias estadísticamente significativas con un  $p > 0.05$  (Altura de tallo  $p = 0,007$ ). Todos los tratamientos fueron comparados con la prueba estadística de ANOVA con covarianza. Los datos representan la media de 4 macetas con 1 plantas de vid variedad *Thompson seedless* en ellas (n: 32).

La altura del tallo, es un indicador agronómico que nos indica el crecimiento vertical obtenido por las plantas, como resultado de condiciones ambientales favorables y una adecuada

disponibilidad de nutrientes en el suelo, entre ellos se destacan el nitrógeno, fósforo y carbono. Por otra parte el carbono cumple un papel esencial para el desarrollo de las vides, ya que constituye el 45% de su materia seca con respecto a los otros nutrientes.

Todos los tratamientos muestran una altura superior al control con excepción del tratamiento en el cual solo se aplicó el inóculo microbiano. Sin embargo, es importante resaltar el resultado obtenido en el tratamiento 4 (I+F), que corresponde al valor promedio más alto, esto probablemente se debe a la aplicación de fertilización química, ya que constituye una fuente de nitrógeno directa para el desarrollo de las vides (Sierra, 2001), como también al efecto de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal por parte de los microorganismos del inoculante microbiano. También se observa que el tratamiento 2 (C+F) y el control del fertilizante, presentan valores altos de altura de tallo, lo cual coincide con la aplicación de fertilización química, esto estaría comprobando el efecto del N en el crecimiento de la uva *Thompson seedless*.

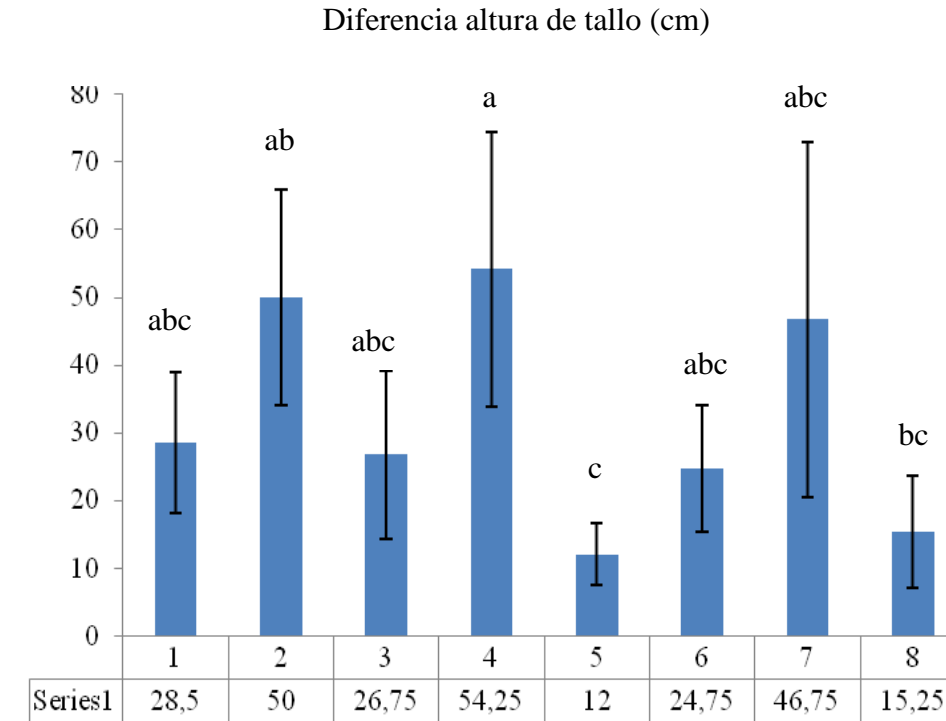
Como se expuso anteriormente se observa que la acción del fertilizante ayuda a la actividad de los microorganismos presentes en el inóculo constituido por los géneros *Pseudomonas sp.*, *Sphingomonas sp.*, y *Brevundimonas sp.*, los que han sido caracterizados como promotores del crecimiento en otros cultivos (Gholami *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2010; Rana *et al.*, 2011). La especie de sinergia que se produce entre el fertilizante y el inoculante puede deberse a que el fertilizante tiene una serie de nutrientes que ayudan a los microorganismos a mantenerse fisiológicamente activos, por efecto de la asimilación de nutrientes en ellos. Además se observa que el inóculo microbiano necesita una fuente de nutriente disponible para actuar en la promoción del crecimiento de las vides, ya que por sí solo no fue capaz de promocionar su desarrollo vegetal, ya que el valor de su control es estadísticamente igual al del control.

También se observó que el segundo promedio más alto obtenido fue en el tratamiento 2 (C+F), indicándonos que su combinación es positiva igualmente para el crecimiento de plantas de

uva, probablemente porque los nutrientes importantes como nitrógeno, entre otros, se encuentran en las cantidades adecuadas, lo cual permitió el crecimiento de las vides durante los 4 meses. Por su parte el tratamiento 3 (C+I) demuestra la falta de nitrógeno proveniente de la fertilización química, lo cual afecta el crecimiento de las vides, ya que la mineralización, es decir el paso de nitrógeno orgánico a inorgánico para las plantas no es efectivo durante los primeros meses, lo cual ha sido demostrado por estudios realizados por Flavel (2005) quien detectó la inmovilización del nitrógeno en el compost durante 50 días aproximadamente, otra razón puede ser la baja disponibilidad de nitrógeno a partir de compost comparado con enmiendas provenientes de estiércoles (Hirzel y Salazar, 2011).

En la Figura 2 se muestra la diferencia de altura de tallo en las plantas de uva de mesa de la variedad *Thompson seedless* en base a sus índices iniciales y el crecimiento obtenido en un periodo de 4 meses. Se observan tres grupos heterogéneos con valores entre 46,8 y 54,3 cm de diferencia y que corresponde a los tratamientos 2 (C+F) y 4 (I+F) y al control del fertilizante, respectivamente, un segundo grupo que considera los tratamientos 3 (C+I) (26,8 cm) y 1 (C+I+F) (28,5cm) y el control del compost (24,8 cm), y un tercer grupo con el control de inóculo con un valor de 12,0 cm que corresponde al valor más bajo y el control absoluto con 15,3 cm de diferencia entre la altura de la planta al inicio y al final del ensayo. Estos resultados indican que el inoculante microbiano por sí solo, no afectó el crecimiento de la planta, esto puede deberse a varias razones, como por ejemplo que el número de microorganismos aplicados no fue el suficiente para realizar un adecuado manejo de la entrega de nutrientes y por otro lado, por la competencia que se produce en el suelo. Queda de manifiesto que el factor común del primer grupo es la fertilización química (tratamientos 2, 4 y control de fertilización) y para el segundo es la presencia del compost (tratamientos 1, 3 y 6), lo que indica que los inóculos microbianos deben tener una fuente nutritiva necesaria que permita activar a los microorganismos mientras la población microbiana se adapta al sistema suelo y lograr una población que por sí sola pueda desarrollar todo su potencial ya sea como PGPR o como fijador de nitrógeno para que puedan realizar su actividad, además se requiere de más de una aplicación de compost para permitir que el sustrato adquiera un nivel basal de nutrientes y con respecto al inóculo se requiere un número

de microorganismos adecuado para realizar actividades metabólicas que colaboren con el desarrollo de la planta.



**Figura 2.** Diferencia entre el valor de altura inicial de plantas de vid variedad *Thompson seedless* y la altura lograda a los cuatro meses fecha de finalización del ensayo (n: 32).

Tanto el diámetro como la altura del tallo son parámetros agronómicos que indican la calidad de las plantas, en este caso, los resultados obtenidos no indican mayor diferencia de diámetro en los tratamientos aplicados como lo muestra el Cuadro 4, sin embargo las vides del tratamiento 4 (I+F) muestran un mayor grosor, probablemente por la disponibilidad de nitrógeno dada por el fertilizante químico, lo cual se comprobó por el control del fertilizante. Siendo este parámetro muy importante, ya que contribuye al sostén estructural de la planta

El crecimiento de las vides se encuentra estrechamente relacionado con la disponibilidad y solubilidad de una adecuada cantidad de nutrientes, lo cual puede ser afectado positiva o negativamente por los factores enzimáticos, químicos y microbiológicos. De ahí la importancia

de la medición de cada parámetro para la búsqueda de las condiciones óptimas en el cultivo de uva de mesa y obtener con ello la concentración adecuada de nutrientes para lograr su desarrollo y paralelamente una mejor calidad de suelos.

Es por lo anteriormente expuesto que se evaluaron los indicadores químicos, donde se midió principalmente el porcentaje de materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo para las vides, entre otros parámetros como se muestra en el Cuadro 5.

**Cuadro 5.** Valores promedios de los indicadores de calidad químicos obtenidos por los tratamientos aplicados a vides de la var. *Thompson seedless*

Tratamientos	Nitrógeno disponible (mg/kg)	Fósforo disponible (mg/kg)	pH	C.E (dS/m)	M.O (%)
1 C+ I+ F	178,17 a	44,75	7,8 bc	0,33 a	1,6 a
2 C+F	149,00 a	45,85	7,7 c	0,25 ab	1,0 ab
3 C+ I	18,22 b	66,19	8,2 a	0,22 bc	0,92 ab
4 I+ F	160,28 a	25,47	8,0 ab	0,22 bc	0,33 b
5 I 100%	6,68 b	8,9	8,3 a	0,13 c	0,35 b
6 C 100%	16,49 b	22,94	8,0 abc	0,21 bc	0,95 ab
7 F 100%	219,71 a	18,18	8,1 ab	0,22 bc	0,34 b
8 Control	10,51 b	11,69	8,1 ab	0,13 c	0,37 b

a, b y c indican diferencias estadísticamente significativas con un  $p > 0.05$  (Nitrógeno disponible  $p$ : 0,001, pH  $p$ : 0,001, C.E  $p$ : 0 y M.O  $p$ : 0). Los tratamientos fueron comparados mediante la prueba estadística de ANOVA con covarianza. Los datos representan la media de 4 plantas de uva de mesa variedad *Thompson seedless* (n: 32).

Uno de los principales parámetros evaluados en este trabajo se relaciona con la materia orgánica aportada por el compost proveniente de orujo y escobajo de uva pisquera. El porcentaje de materia orgánica es uno de los principales factores que contribuye a la fertilidad de los suelos y con ello a mejorar en gran medida las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo, principalmente por ser una fuente de nutrientes y de microorganismos.

La aplicación de compost como fertilizante orgánico aumenta el porcentaje de materia orgánica lo cual se ve reflejado en todos los tratamientos que contienen esta enmienda (Cuadro 5). El tratamiento 1 (C+I+F) fue el que presentó el mayor porcentaje de materia orgánica, esto pudiera demostrar la interrelación que existe entre los factores involucrados, ya que el inóculo microbiano interactúa con el compost, principalmente porque este último actúa como sustrato y fuente de nutrientes de los microorganismos presentes y el fertilizante químico como una fuente nutritiva adicional, activando con ello las reacciones enzimáticas que degradan los compuestos. Por otra parte cuando el compost esta solamente acompañado de la fertilización química o del inoculante microbiano tiene un comportamiento similar a su control, lo que indica que aun cuando estos dos factores se relacionan entre sí, requieren del tercer factor ya sea del fertilizante o bien del inóculo microbiano según corresponda, para descomponer los compuestos que se encuentran en el suelo y con ello aumentar la efectividad hidrolítica.

Como se expuso anteriormente: la materia orgánica es una fuente de nutrientes, lo cual se refleja en una mediana correlación (Cuadro 6) entre el porcentaje de materia orgánica y el fósforo disponible para las plantas (0,416). También se correlaciona con otra propiedad química, como es la conductividad eléctrica (0,633\*\*), promoviendo la estabilidad iónica necesaria para la agregación del suelo y la disponibilidad de los nutrientes.

**Cuadro 6.** Correlación de indicadores de calidad químico con el crecimiento y diámetro de tallo de vides var. *Thompson seedless*.

Parámetro	Nitrógeno disponible mg/kg	pH	CE (dS/m)	M. O (%)	Altura Tallo (cm)
Fósforo (mg/kg)	0,101	-0,274	0,337	0,416(*)	0,034
Nitrógeno disponible (mg/kg)	1	-0,434(*)	0,622(**)	0,149	0,606(**)
pH		1	-0,680(**)	-0,599(**)	-0,283
C.E (dS/m)			1	0,633(**)	0,394(*)
M.O (%)				1	-0,055

(\*\* sig. 0,01 y \* sig. 0,05) (n: 32)

Otros parámetros analizados se relacionaron con la disponibilidad de nutrientes, donde se evaluó por ejemplo, el nitrógeno, que se caracteriza por ser un elemento esencial que se encuentra, como parte de la clorofila, ácidos nucleicos, vitaminas y hormonas, por ello es indispensable para el crecimiento vegetal de las vides (Martínez *et al.*, 2010). Esto último fue corroborado en este estudio, ya que existe una buena correlación entre el nitrógeno disponible de las vides y la altura del tallo (0,606\*\*), lo cual refuerza lo expuesto por Palma (2006), quien señala que el nitrógeno es el principal factor en el crecimiento de las vides (Cuadro 6).

Este trabajo demuestra la importancia de la disponibilidad de nitrógeno a partir del fertilizante químico para el crecimiento de las plantas de uva de mesa, ya que a pesar que el compost presentó una cantidad de nitrógeno disponible alta (Cuadro 2), esta enmienda no fue la principal fuente de nitrógeno en el ensayo, una posible explicación de ello, es que el nitrógeno presente en el compost haya sido inmovilizado durante dicho periodo.

El fertilizante químico aumentó el nitrógeno disponible, demostrándose este efecto con los valores más altos en el tratamiento 1 (C+I+F), 2 (C+F), 4 (I+F) y en el control del fertilizante químico. El valor más bajo de nitrógeno lo presenta el control del inóculo, posiblemente porque los microorganismos utilizan parte del nitrógeno presente en el suelo para sus procesos metabólicos, siendo este incluso más bajo que el observado en el control absoluto.

El hecho que el compost aporte con una baja cantidad nitrógeno disponible a través del tiempo, se basa principalmente en que este elemento se encuentra en una mayor proporción en forma orgánica y no de forma soluble, forma mediante la cual las plantas pueden captar este nutriente. Además cabe destacar que el compost es la enmienda orgánica que menos aporta nitrógeno disponible por su baja tasa de mineralización de nitrógeno (Hierzel y Salazar, 2011), lo cual sin embargo permite una fuente permanente de nitrógeno. El bajo aporte de nitrógeno a través del tiempo fue demostrado por el trabajo realizado por Flavel (2005), quien durante su



investigación evaluó el tiempo en que el compost proveniente de orujo de uva es capaz de inmovilizar el nitrógeno, por lo menos durante 50 días, lo cual quiere decir que se necesita una fuente alternativa de nitrógeno durante el periodo de inmovilización. Por otra parte se observa la baja disponibilidad inmediata de nitrógeno a partir del compost en su control (Cuadro 5), ya que incluso con la adición de microorganismos, la mineralización no aumenta y con ello tampoco la disponibilidad de nitrógeno a partir de la enmienda orgánica como se demuestra en el tratamiento 3 (C+I).

Otro nutriente de gran importancia es el fósforo, que se caracteriza por ser esencial para el crecimiento vegetal, especialmente de las raíces (Sierra, 2001). La disponibilidad del fósforo está sujeta a la concentración de fosfatos en el sistema del suelo, donde el pH juega un papel crucial en su disponibilidad ya que este elemento tiende a reaccionar con otros elementos como Ca, Mg y Al, los cuales inmovilizan el fósforo quedando en condiciones de baja o nula disponibilidad para las plantas, en cambio bajo condiciones de pH neutro la tasa de mineralización de compuestos orgánicos es más alta, liberando ortofosfato a la solución del suelo (Martínez *et al.*, 2010).

En el presente estudio se observa que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, aunque las cifras indican que los tratamientos con compost tienen una mayor cantidad de fósforo disponible y que su combinación con el inóculo microbiano aumenta su disponibilidad como se observa en el tratamiento 3 (C+I). Este efecto se puede basar principalmente en un efecto solubilizador de fósforo de las bacterias del inóculo microbiano aplicadas a los cultivos, mas aun cuando se encuentran en presencia del compost, lo cual promueve una mayor disponibilidad del fósforo orgánico por la acción enzimática que ejercen estos microorganismos a través de las fosfatasas (Crecchio *et al.*, 2004; Sapatka, 2003). El tratamiento 3 (C+I) se diferencia del tratamiento 2 (C+F), en la presencia del inoculante microbiano, ya que la ausencia de este factor afecta negativamente el fosforo disponible en el tratamiento 2 (C+F).

También se observa que el fertilizante químico por si solo es capaz de aportar fósforo al suelo y con ello afectar positivamente el crecimiento de la planta como se demuestra en el control de fertilización química. El tratamiento 2 (C+F) no presenta, sin embargo, una mayor cantidad de fósforo a pesar de tener fuente orgánica e inorgánica, lo cual puede darse por el efecto de retención del fertilizante, por atracción de cargas entre el compost y el fertilizante, o por efecto de la reducción del pH durante el proceso de descomposición de la materia orgánica, o incluso también por un efecto de represión de las fosfatasa por presencia de sustrato (fertilizante inorgánico). Por otra parte también se observa un efecto similar en el tratamiento 1 (C+I+F) dada por la baja mineralización de fósforo del compost en presencia del fertilizante.

Otro parámetro químico medido fue el pH, el cual juega un papel esencial en la disponibilidad de nutrientes como N, P, K y S, ya que influye en su solubilidad y con ello en la captación de nutrientes por parte de las plantas (Sierra, 2001). El pH más alto obtenido fue por el control del inóculo y el tratamiento 3 (C+I), donde se vio reflejada la aplicación del inóculo, también el compost demostró su propiedad amortiguadora de pH, a través de su control (Martínez *et al.*, 2010). También se aprecia que el control del fertilizante y el tratamiento 4 (I+F) tienen valores intermedios comparados con los demás. Los pH más bajos fueron obtenidos por los tratamientos 1 (C+I+F) y 2 (C+F).

La conductividad eléctrica es un parámetro estimador de concentración de sales e iones disueltos, por ende a través de este se puede observar el grado de salinidad del suelo, también se le relaciona con la materia orgánica (Grisso *et al.*, 2009). La uva de mesa es capaz de tolerar hasta 1,7 dS/m, por lo cual en ningún tratamiento las vides se estresaron (Sierra, 2001), reconociendo en el ensayo, la presión osmótica adecuada para lograr un balance en la disponibilidad de los nutrientes. En este estudio se observa una mayor conductividad eléctrica en los tratamientos con compost y fertilizante químico, producto de la liberación de nitrógeno y nitrificación; sin embargo ellos no generaron ningún tipo de estrés osmótico para las plantas con la cantidad de sales y carga iónica que presentan, pues ningún tratamiento supero los 1,7dS/m.

La disponibilidad de los nutrientes puede estar sujeta a la hidrólisis de compuestos complejos que se encuentren en el suelo, lo cual está relacionado con la actividad enzimática del sistema, ya que las enzimas tienen la capacidad de hidrolizar determinados compuestos complejos como compuestos orgánicos de fósforo, oxidar materia orgánica e hidrolizar compuestos complejos como proteínas, almidón y celulosa entre otros, que permiten obtener elementos como nitrógeno y carbono, que son esenciales tanto para los microorganismos del suelo y su actividad como para el desarrollo de las plantas (Makoi y Ndakidemi, 2008).

Los tratamientos aplicados a las plantas de vid, muestran diferencias estadísticamente significativas en actividades enzimáticas como la deshidrogenasa y la fosfatasa ácida, como se observa en el Cuadro 7.

**Cuadro 7.** Valores promedios de las diferentes actividades enzimáticas obtenidas por los tratamientos.

Tratamiento		Deshidrogenasa (UDH) µg de TFP/g*24h	Fosfatasa ácida (acUP) µg p-nitrofenol/g*h	Fosfatasa alcalina (alkUP) µg p-nitrofenol/g*h	β glucosidasa (UBG) µg p-nitrofenol/g*h
1	C+I+F	11,17 a	96,35 a	92,02	113,84
2	C+F	9,11 ab	82,92 ab	66,07	68,17
3	C+I	8,77 abc	86,53 ab	67,32	88,75
4	I+ F	2,15 bc	87,27 ab	88,84	71,26
5	I 100%	3,44 abc	96,06 a	59,25	69,74
6	C 100%	7,23 abc	52,37 b	70,72	69,93
7	F 100%	1,11 bc	88,29 ab	58,54	43,63
8	control	0,61 c	84,26 ab	48,05	43,21

a, b y c indican diferencias estadísticamente significativas con un  $p > 0.05$  (deshidrogenasa  $p = 0,013$ , Fosfatasa ácida  $p = 0,021$ ). Todos los tratamientos fueron comparados mediante la prueba de ANOVA con covarianza. Los datos representan la media de 4 plantas de uva de mesa variedad *Thompson seedless* (n: 32).

Los promedios de las actividades deshidrogenasa,  $\beta$  glucosidasa, fosfatasa ácida y alcalina demuestran cómo influye cada tratamiento en la actividad hidrolítica del suelo y con ello en la hidrólisis de compuestos complejos del suelo, donde el compost cumplió un papel esencial en la estimulación enzimática, hecho que igualmente se demostró en el trabajo realizado por Lichner *et al.* (2007), donde la actividad fosfatasa y  $\beta$  glucosidasa se vio estimulada tras adicionar la enmienda orgánica. En el cual se presentan los valores promedios de las actividades enzimáticas tras 4 meses de aplicados los tratamientos, donde se refleja que el tratamiento 1 (C+I+F) presenta la mayor actividad enzimática de deshidrogenasa,  $\beta$  glucosidasa y fosfatasa ácida y alcalina.

La deshidrogenasa es una enzima intracelular envuelta en el metabolismo microbiano oxido-reductor, altamente dependiente de los microorganismos vivos del suelo, destacando su aumento de actividad con la aplicación de enmiendas orgánicas. El estudio indica que el primer tratamiento (C+I+F) tiene una mayor actividad deshidrogenasa aportado principalmente por la adición de compost e inóculo según la actividad de sus respectivos controles, lo cual refleja el aporte de microorganismos fisiológicamente activos del compost, que se da principalmente por la carga de nutrientes que hay en la enmienda orgánica al contener el nitrógeno, el fósforo y el carbono necesario, para mantener el metabolismo de los microorganismos y con ello la actividad óxido-reducción en presencia de un sustrato, como es la materia orgánica presente, que también provee una estabilidad en los agregados del suelo que promueve la actividad enzimática (Mohammadi, 2011).

Makoi y Ndakidemi (2008), reafirman también que la actividad deshidrogenasa está estrechamente relacionada con la oxidación de enmiendas orgánicas, por la capacidad de los microorganismos de realizar reacciones oxido-reducción. Esta acción microbiana se encuentra reforzada por la presencia de los nutrientes adicionales que entrega el fertilizante químico a los microorganismos para su sobrevivencia, como se observó también en el tratamiento 2 (C+F), lo cual hace la diferencia con el resto de los tratamientos.

La disponibilidad de nutrientes fue esencial para mantener el metabolismo microbiano y con ello mantener la actividad deshidrogenasa activa, lo cual se observa al comparar el tratamiento 2 (C+F) con el tratamiento 3 (C+I), lo cual demuestra que los microorganismos necesitan los nutrientes aportados por el fertilizante químico para realizar reacciones oxido-reducción y oxidar la materia orgánica presente en el compost. Los controles por su parte demuestran la actividad deshidrogenasa que posee el compost, el fertilizante químico y el inóculo microbiano, donde se observó que el compost por sí solo, aporta la mayor actividad deshidrogenasa, seguido por el inóculo y finalmente el fertilizante químico. Este último en forma independiente no aporta mayor actividad deshidrogenasa sino más bien tiene una acción nutritiva sobre los microorganismos presentes, demostrándose con ello como la dosis de fertilizante mantiene los microorganismos fisiológicamente activos en el suelo de las vides.

Al comparar la actividad deshidrogenasa de las vides en estudio, se observa que sus valores son similares a los obtenidos en maíz por Wolna- Maruwka *et al.* (2009), luego de la aplicación de lodos de depuradora y son más altos que los obtenidos tras fertilización e irrigación en *Malus domestica* (Styla y Sawicka, 2009).

La actividad fosfatasa por su parte, se encarga de la hidrólisis del fósforo orgánico, transformándolo a formas inorgánicas de fósforo disponible para las plantas, la actividad de esta enzima es estimulada por enmiendas orgánicas (Crecchio *et al.*, 2004), por lo cual la fosfatasa juega un rol importante en la mineralización del fósforo orgánico. Sin embargo ambas actividades fosfatasas se encuentran muy poco correlacionadas con el fósforo disponible y el porcentaje de materia orgánica presente (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Correlación de actividad enzimática y nutrientes disponibles en vides *Thompson seedless* tras 5 meses de evaluación de tratamientos. (\*\* sig. 0,01 y \* sig. 0,05).(n:32)

	Fosfatasa ácida (acUP)	Fosfatasa alcalina (alkUP)	$\beta$ glucosidasa (UBG)	Fósforo (mg/kg)	Nitrógeno (mg/kg)	MO (%)
Deshidrogenasa (UDH)	0,07	0,4(**)	0,75(**)	0,42(*)	0,13	0,81(**)
Fosfatasa ácida (acUP)	1	0,17	0,12	0,17	0,24	0,03
Fosfatasa alcalina (alkUP)		1	0,51(**)	0,20	0,36(*)	0,37(*)
$\beta$ glucosidasa (UBG)			1	0,54(**)	0,16	0,76(**)
Fósforo disponible(mg/kg)				1	0,10	0,41(*)
Nitrógeno disponible(mg/kg)					1	0,14

La actividad fosfatasa ácida y alcalina presentan una acción similar en los tratamientos, principalmente por el pH cercano a la neutralidad que poseen, comprendidos entre 7,7 y 8,3 (Cuadro 5 y Cuadro 7), por lo cual ambas actividades fosfatasas tienen las condiciones de pH adecuadas para actuar en el suelo de las vides, pero también se observa que la actividad fosfatasa ácida prevalece.

La actividad fosfatasa ácida presenta diferencias estadísticamente significativa entre los tratamientos, donde la mayor actividad se encuentra en el tratamiento de C+I+F y en el control I, probablemente por la presencia de los microorganismos. Se observa que al adicionar por separado compost o fertilizante al inóculo tiende a disminuir la actividad fosfatasa ácida. Posiblemente porque el compost tiende a atraer o adherir las enzimas extracelulares, como es la actividad fosfatasa ácida y el fertilizante por su parte disminuye su actividad, sin embargo estos efectos se ven atenuados en el primer tratamiento C+I+F. Igualmente la presencia de fósforo disponible en la fertilización química inhibe la actividad de la enzima (Criquet y Braud, 2008) Estudios realizados por Stancheva *et al.* (2008) demuestran un aumento de la actividad fosfatasa ácida en alfalfa con la aplicación de hongos micorrízicos arbusculares, pero sus valores son más bajos que los presentados por las vides.

Con respecto a la fosfatasa alcalina no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, aun así las medias nos indican algunas diferencias, donde el tratamiento 1 (C+I+F) presenta la mayor actividad al igual que la fosfatasa ácida. Además se destaca que el tratamiento 4 (I+F) presenta una alta actividad fosfatasa alcalina, lo cual demuestra un efecto sinérgico entre el inóculo y el fertilizante, debido principalmente a que el inóculo es capaz de producir la enzima extracelular y actuar al pH que el fertilizante determina en el suelo, sin embargo los controles muestran que el compost por sí solo aporta una mayor actividad fosfatasa alcalina con respecto al fertilizante químico y al inóculo microbiano, por la actividad biológica que posee, siendo afectada esta actividad tanto por la presencia del fertilizante como del inóculo, coincidiendo con un valor intermedio entre ellos en los tratamiento 2 (C+F) y 3 (C+I).

La  $\beta$  glucosidasa, es una enzima extracelular que cataliza el paso final de la degradación de la celulosa, se ha demostrado que aumenta su actividad con la aplicación de enmiendas orgánicas y a disminuido con la aplicación de fertilizantes químicos (Kunkwenzu, 2008), siendo utilizada para medir la calidad del suelo por su relación con los compuestos orgánicos (Ma *et al.*, 2010). Los resultados obtenidos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, sin embargo se observan medias diferentes, donde el compost y el inóculo microbiano de forma independiente tienen mayor actividad  $\beta$  glucosidasa con respecto a la fertilización química. Se observa también que la combinación C+I favorece esta actividad hidrolítica por la mayor biomasa microbiana y sustrato disponible, como se demostró en el estudio realizado por Turner *et al.* (2002), donde se muestra la alta correlación entre la actividad  $\beta$  glucosidasa y el contenido de carbono en forma de materia orgánica. También se observa que la adición del fertilizante químico a la mezcla de C+I potencia la actividad enzimática debido a la mayor cantidad de nutrientes disponibles para el inóculo y los microorganismos presentes en el compost, aumentando con ello la acción de degradación de celulosa presente.

Por otra parte la aplicación del fertilizante por sí solo no afecta negativamente la actividad  $\beta$  glucosidasa (Cuadro 8), ya que el control del fertilizante tiene un valor similar al control absoluto

demostrando que no hay influencia del fertilizante en la actividad  $\beta$  glucosidasa del suelo y tampoco afecta la acción del compost y del inóculo microbiano, ya que en los tratamientos 2 (C+F) y 4 (I+F) se observa prácticamente la misma actividad que en los respectivos controles del inóculo microbiano y del compost respectivamente. El trabajo presentado por Acosta- Martínez *et al.* (2007) muestra que en una cuenca tropical el valor de la actividad  $\beta$  glucosidasa se aproxima a 30 mg de  $p$ -nitrofenol  $\text{kg}^{-1}$  suelo  $\text{h}^{-1}$ .

Estos resultados indican que la actividad enzimática está medianamente relacionada con la disponibilidad de nutrientes en el suelo, como es el caso del fósforo con la deshidrogenasa (0,42\*) y la  $\beta$  glucosidasa (0,54\*\*). También se observa claramente la estrecha relación de la actividad hidrolítica con el porcentaje de materia orgánica presente en el suelo, lo cual se demuestra en su alta correlación con la deshidrogenasa (0,81\*\*) y  $\beta$  glucosidasa (0,76\*\*), como también se demuestra que el compost presenta una mediana relación con el fósforo (correlación: 0,41\*) (Cuadro 8)

Dentro de los indicadores de calidad de suelo, también se encuentran los indicadores microbiológicos, los cuales son de gran importancia como parámetros de calidad de suelo (Bautista *et al.*, 2004), ya que existen bacterias, hongos y levaduras capaces de producir enzimas hidrolíticas y con ello degradar los complejos compuestos que se encuentran en el suelo y utilizarlos como fuente nutritiva o bien para contribuir a la solubilización de nutrientes para las plantas. Entre estos microorganismos que se destacan por la función degradadora se encuentran los hongos, y levaduras, como también las bacterias proteolíticas y amilolíticas.

Los resultados presentados en el cuadro 9 indican que no existe diferencia estadísticamente significativa en la concentración de hongos, levaduras y bacterias proteolíticas de los tratamientos propuestos con los respectivos controles. Lo cual indica que se mantiene la microflora del suelo



original (control), sin que esta se encuentre afectada positiva o negativamente con la adición de fertilizante químico, compost e inóculo, sino más bien esta se mantiene.

**Cuadro 9.** Promedios y diferencias entre tratamientos de análisis microbiológico.

Tratamiento		Hongos UFC/g (log10)	Levaduras UFC/g (log 10)	Bacterias proteolíticas UFC/g (log 10)	Bacterias amilolíticas UFC/g (log 10)
1	C+ I+ F	3,1	5,34	3,85	3,91 a,b
2	C+ F	2,9	4,79	3,45	2,88 b
3	C+I	3,1	5,28	3,42	3,24 a,b
4	I+ F	2,9	5,25	3,64	3,72 a,b
5	I 100%	3,0	4,66	3,85	3,46 a,b
6	C 100%	2,8	4,96	3,79	3,42 a,b
7	F 100%	2,6	4,93	4,13	3,52 a,b
8	control	2,8	4,88	3,89	4,32 a

a, b y c indican diferencias estadísticamente significativas con un  $p > 0.05$  (Amilolíticos  $p = 0,028$ ). Todos los tratamientos fueron comparados mediante la prueba estadística paramétrica de ANOVA con covarianza. Los datos representan la media de 4 plantas de uva de mesa variedad *Thompson seedless* (n:32)

Por su parte las bacterias amilolíticas presentan diferencias estadísticamente significativas, sin embargo estas se encuentran afectadas negativamente por la aplicación de los tratamientos, siendo el tratamiento 2 (C+F) el más afectado.

Finalmente se puede decir que los resultados expuestos muestran la necesidad de utilizar fertilizantes químicos para el crecimiento de las vides, pero también destacan los beneficios de la actividad biológica y química que proporciona la adición de materia orgánica, como también la necesidad de estudiar profundamente la utilización del inóculo microbiano como potencial biofertilizante y sus propiedades promotoras del crecimiento.

## 5.- CONCLUSIONES

El estudio realizado en *Vitis vinifera* L. var. *Thompson seedless* bajo condiciones de invernadero permitió concluir que:

1.- La aplicación de un programa de fertilización integrada (compost, inóculo microbiano y fertilizante químico) tiene un impacto positivo sobre la actividad enzimática del suelo (deshidrogenasa,  $\beta$  glucosidasa, fosfatasa ácida y alcalina). Sin embargo, este resultado no se refleja en las variables agronómicas asociadas al crecimiento de la vid de uva de mesa variedad *Thompson seedless*, en el periodo inicial del crecimiento, sino probablemente contribuyendo a la actividad biológica del suelo.

2.- La aplicación de 2 kg compost de orujo y escobajo de uva de mesa, como enmienda permitió aumentar el porcentaje de materia orgánica en el suelo vides de mesa var. *Thompson seedless* en un periodo de 4 meses. Así mismo, la aplicación del compost en mezcla con un inóculo microbiano resultó en una mayor disponibilidad de fósforo para las plantas de vid de variedad *Thompson seedless*.

3.- La aplicación de 2 kg de compost en el suelo de uva de mesa var. *Thompson seedless* disminuyó el pH del suelo en combinación con el inóculo microbiano y fertilizante químico, a su vez la conductividad eléctrica aumenta con la aplicación de compost y fertilizante químico. Por lo cual estos indicadores pueden ser reflejo del manejo de suelo.

4.- En relación a las variables microbiológicas, de los grupos de microorganismos seleccionados como posibles indicadores de cambios en la calidad de suelo podemos señalar que al aplicar compost como enmienda orgánica, no se observó cambios significativos en la presencia de los hongos, levaduras y microorganismos proteolíticos.

5.- En el periodo de crecimiento vegetal, la concentración de amilolíticos resultó afectada de manera negativa ( $p < 0,05$ ) con las aplicaciones de compost y fertilizante químico, con respecto a los otros tratamientos. Si bien no puede concluirse su efecto sobre la planta o relaciones rizosféricas, este grupo microbiano podría perfilarse como un indicador de calidad de suelo para cultivo de uva de mesa en periodo de crecimiento.

## 6.- RESUMEN

La uva de mesa es una de las principales frutas de exportación en Chile, por lo que pensando en mejorar las características de calidad del fruto y mantener o mejorar las condiciones del suelo, en especial en cuanto al contenido de materia orgánica, se evaluó el efecto de compost obtenido de residuos de la industria pisquera y un inóculo microbiano como mejoradores de calidad de suelo en vides de variedad *Thompson seedless* de un año de edad bajo condiciones de invernadero. Como variables de respuesta e indicadores de calidad de suelo se utilizaron: deshidrogenasa,  $\beta$  glucosidasa, fosfatasa ácida y alcalina, nitrógeno (N mg/kg) y fósforo (P mg/kg) disponibles, pH, conductividad eléctrica (CE), porcentaje de materia orgánica (MO%), microorganismos proteolíticos, amilolíticos, hongos y levaduras (unidades formadoras de colonia/g).

Los resultados indicaron que las aplicaciones de compost influyen positivamente en la actividad enzimática de deshidrogenasa ( $p < 0,05$ ) y  $\beta$  glucosidasa en suelo. Así mismo la actividad  $\beta$  glucosidasa se incrementa también con la aplicación de un inóculo microbiano, junto con la actividad fosfatasa ácida. Por otra parte, en relación a los cambios en poblaciones microbianas, la concentración de microorganismos proteolíticos, hongos y levaduras (ufc/g), no se vio influida por la aplicación de compost y tampoco del inóculo microbiano.

Respecto a la disponibilidad de nutrientes, si bien el compost promovió la disponibilidad de fósforo, tanto mediante mineralización de P orgánico, como por efecto regulador del pH del suelo, se reafirma que las enmiendas orgánicas de tipo compost no representan una fuente adecuada de N, por lo cual se destaca la importancia de un manejo integrado de fertilización, que tenga en cuenta tanto el aporte de nutrientes como el mejoramiento de condiciones que estimulan la microflora del suelo.

## 7.- SUMMARY

Table grape are major export fruit in Chile, so thinking about improving the quality characteristics of the fruit and maintain or improve soil conditions, especially in the content of organic matter, we evaluated the effect waste compost obtained from pisco industry and native microbial inoculums as soil improvers of *Thompson seedless* variety grapes one year of age under greenhouse conditions. As response variables we used the following indicators of soil quality: dehydrogenase,  $\beta$  glucosidase, acid phosphatase and alkaline phosphatase, nitrogen availability (N mg/kg) and phosphorus availability (P mg/kg), pH, electrical conductivity (E.C), organic matter percentage, number of microorganisms proteolytic, amylolytic, fungi and yeast (colony forming units/g).

The results indicated that compost provides positive influence in dehydrogenase (p 0, 05) and  $\beta$  glucosidase activity and with microbial inoculums increased acid phosphatase activity and  $\beta$  glucosidase. Moreover, concentration of proteolytic microorganism, fungi and yeast (cfu/g) was not affected by the application of compost or microbial inoculums as organic amendment.

Regarding the availability of nutrients, while the compost promoted the availability of the phosphorus, both through organic P mineralization, such as regulatory effect on soil pH, was confirmed that organic amendments as compost, did not represent an adequate supply of N, thus highlighting the importance of an integrated management of fertilization, which takes into account both the supply of nutrients such as improving conditions that stimulate the soil microorganisms

## 8.- LITERATURA CITADA

- Acosta, Y. y Paolioni, J.** 2005. Actividad de la enzima deshidrogenasa en un suelo calciorthids enmendado con residuos orgánicos. *Agronomía Tropical*. 55(2):217-232.
- Acosta- Martínez, V., Cruz, L., Sotomayor- Ramírez, D. y Pérez- Alegría, L.** 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*. 35: 35- 45.
- Alexander, M.** 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT editor, S.A. México D.F, México. 491
- Bach, H., Tomanova, J., Schloter, M. y Munch, J.** 2002. Enumeration of total bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiological Methods*. 49: 235-245.
- Barral, M., Paradelo, R., Moldes, A., Domínguez, M. y Díaz-Fierros, F.** 2009. Utilization of MSW compost for organic matter conservation in agricultural soils of NW Spain. *Resources, Conservation and Recycling*. 53 (9): 529-534.
- Bautista, A., Etchevers, J., Del Castillo, R. y Gutiérrez. C.** 2004. La calidad del suelo y sus indicadores. *Ecosistemas*.13 (2): 90-97.
- Bertrán. E., Sort. X., Soliva. M. y Trillas. I.** 2004. Composting winery waste: sludges and grape stalks. *Bioresource Technology*.95 (2) 203–208.
- Borie, F., Rubio, R. y Morales, A.** 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil aggregation. *Journal Science Plant Nutritional*. 8(2): 9-18.
- Botha, A.** 2011. The importance and ecology of yeasts in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 43(1): 1-8
- Bravo. J.** 2010. Mercado de uva de mesa. Oficina de Estudios y Política Agraria (ODEPA). Gobierno de Chile. Santiago –Chile. 15p.
- Brzezińska, M., Stêpniewska, Z., Stêpniewski, W., Wodarczyk, T., Przywara, G. y Bennicelli, R.** 2001. Effect of oxygen deficiency on soil dehydrogenase activity (pot experiment with barley). *International Agrophysics*. 15: 3-7.
- Ceron, L. y Malgarejo, L.** 2005. Enzimas de suelo: Indicadores de salud y calidad. *Acta Biológica Colombiana*. 10(1):6-18.

- Compant, S., Mitter, B., Gualberto, J., Gangl, H. y Sessitsch, A.** 2011. Endophytes of Grapevine Flowers, Berries, and Seeds: Identification of Cultivable Bacteria, Comparison with Other Plant Parts, and Visualization of Niches of Colonization. *Microbial Ecology*. 62:188–197.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C. y Ait Barka, E.** 2005. Use of plant Growth-Promoting Bacteria for biocontrol of plant Diseases: principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(9): 4951-4959.
- Coyne, M.** 2000. *Microbiología de suelo*. Editorial Parainfo. Madrid España.416.
- Costabal, A.** 2010. Determinación de indicadores de productividad de la industria frutícola chilena, como base para el desarrollo de mejoras competitivas. Asociación de Exportadores. Santiago- Chile. 9-31.
- Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M., Ricciuti, P. y Ruggiero, P.** 2004. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biology and Biochemistry*. 36: 1595- 1605.
- Criquet, S. y Braud, A.** 2008. Effects of organic and mineral amendments on available P and phosphatase activities in a degraded Mediterranean soil under short- term incubation experiment. *Soil and Tillage Research*. 98: 164- 174
- Criquet, S., Ferre, E., Farnet., A. y Petit, J.** 2004. Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: influence of biotic and abiotic factors. *Soil Biology y Biochemistry*. 36(7):1111–1118.
- De Boer, W., Folman, L., Summerbell, R. y Boddy, L.** 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews*. 29:795–811.
- Doran, J. y Parkin, B.** 1994. *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Soil Science Society of America, Special Publication. Madison, Estados Unidos.
- Flavel.T., Murphy.D. y Fillery.** 2005. Gross N mineralization rates after application of composted grape marc to soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 37(7): 1397–1400.
- Franco, J. y Urzúa, I.** 2006. Informa análisis de compost. Asesoría a la planta de compostaje Ecomaule. Talca- Chile. 6
- Geisseler, D., Horwath, W., Georg Joergensen, R. y Ludwig, B.** 2010. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms - A review. *Soil Biology & Biochemistry*.42(12): 2058 -2067.

- Gholami, A., Shahsavani, S. y Nezarat, S.** 2009. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination, Seedling Growth and Yield of Maize. World Academy of Science, Engineering and Technology. 49: 19-24.
- Grisso, R., Alley, M., Holshouser, D. y Thomason, W.** 2009. Precision Farming Tools: Soil electrical conductivity. 442-508.
- Hirzel, J. y Salazar, F.** 2011. Técnicas de conservación de suelos, agua y vegetación en territorios degradados. Capítulo 5: Uso de enmiendas orgánicas como fuente de fertilización en cultivos. Curso de acreditación para operadores SIRSD 2011. Chillan – Chile. 1-30.
- Hu, C. y Cao, Z.** 2007. Size and activity of the soil microbial biomass and soil enzyme activity in long-term field experiment. World journal of Agricultural Science. 3(1): 63-70.
- Jastrzêbska, E. y Kucharski, J.** 2007. Dehydrogenases, urease and phosphatases activities of soil contaminated with fungicides. Plant Soil Environment. 53 (2): 51–57.
- Julca-Otiniano, A., Meneses, L., Blas, R. y Bello- Amez, S.** 2006. Organic matter, importance, experiences and it role in agriculture. Idesia. 24(1):49-61.
- Kumar Das, S. y Varma, A.** 2011. Role of Enzymes in Maintaining Soil Health. Soil Enzymology, Soil Biology. 22: 25-42.
- Kunkwenzu, G.** 2008. Analysis of microbial activity and community structure in organically and chemically fertilized soils. Journal of Developments in Sustainable Agriculture. 3: 172-182.
- Lichner, L., Hernandez, M., Mataix-solera, J., Stekaurová, V., Zaujec, A y Garcia izquierdo, C.** 2007. Assessing the microbiological, biochemical, soil-physical and hydrological effects of amelioration of degraded soils. International Scientific Conference. Poľana nad Detvou, Eslovaquia. ISBN 978-80-228-17-60-8.
- López R., J. y López M., J.** 1990. El diagnóstico de suelos y plantas (Métodos de campo y laboratorio). Editorial Mundi – Prensa. Madrid, España. 363.
- Ma, X., Chen, L., Chen, Z., Wu, Z., Zhang, L. y Zhang, Y.** 2010. soil glycosidase activities and water soluble organic carbon under different land use types. R.C. Suelo Nutrición Vegetal. 10(2): 93 – 101.
- Makoi, J. y Ndakidemi, P.** 2008. Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. African Journal of Biotechnology. 7(3): 181-191.
- Martínez, M., Gutiérrez, V. y Novo, R.** 2010. Microbiología aplicada al manejo sustentable de suelos y cultivos. Editorial USM. Santiago- Chile. 235.



- Martínez, M., Pedroza, A. y Gutiérrez, V.** 2010. Métodos microbiológicos, físicos y químicos con aplicación ambiental. Editorial USM. Santiago- Chile. 239.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M., Crowley, D., Gajardo, G. y Mora, M.** 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by hizobacteria. *Journal Soil Science Plant Nutritional*. 10(3): 293- 319.
- Mohammadi, K.** 2011. Effect of different fertilization methods on soil biological indexes. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 78: 407- 410.
- Mrkonjic, M., Ángel, M., Gattinger, A., Bausenwein, U., Sommer, M., Munich, J. y Schloter, M.** 2008. Factors influencing variability of proteolytic genes and activities in arable soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 40(7):1646–1653.
- Mulvaney, R.** 1996. Nitrogen-Inorganic Forms. p. 1123-1184. In *Methods of Soil Analysis: Chemical Methods. Part 3*. D.L. Sparks, editor. Soil Science. Society. of American. Madison, Estados Unidos.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S. y Matarese, E.**1980. Extraction of phosphatase, urease, protease, organic carbon and nitrogen from soil. *Soil Science Society Journal* 44: 1011-1016.
- Navarrete, A., Vela, G., López, J. y Rodríguez, M.** 2011. Naturaleza y utilidad de los indicadores de calidad del suelo. *ContactoS*. 80: 29–37.
- Ochoa, V., Hinojosa, B., Gómez-Muñoz, B. y García-Ruiz,** .2007. Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos. *Iniciación a la Investigación*. 2:r1.
- Palma, J.** 2006. Estrategia de fertilización en vid de mesa diseños y monitoreos. *Guía de manejo nutrición vegetal de especialidad: Uva*. Soquimich Nitratos S.A .135.
- Parada, M.** 2005. I Taller Iberoamericano sobre Normativa y Control de Calidad de Inoculantes para la Agricultura. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz FIOCRUZ. Salvador-Bahía-Brasil. 29.
- Paradelo, R., Moldes, A. y Barral, M.** 2009. Properties of slate mining wastes incubated with grape marc compost under laboratory conditions. *Waste Management*. 29(2): 579–584.
- Porta, J., López-Acebedo, M. y Roquero de laburu, C.** 2003. "Edafología para la agricultura y el medio ambiente". Editorial Mundi Prensa. Madrid, España. 849.

- Qualls, R., Takiyama, A y Wershaw, R.** 2003. Formation and loss of humic substances during decomposition in a pine forest floor. *Soil Science Society of American Journal* . 67: 899-909.
- Raghothama, K.** 1999. Phosphate acquisition. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*. 50:665–693.
- Rana, A., Saharan, B., Joshi , M., Prasanna, R., Kumar, K. y Nain, L.** 2011. Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat. *Annual Microbiology*. 61: 893-900.
- Romero E., Fernández-Bayo, J., Castillo, J. y Nogales, R.** 2010. Enzyme activities and diuron persistence in soil amended with vermicompost derived from spent grape marc and treated with urea. *Applied Soil Ecology*. 44 (3). 198-204.
- Ruiz, M. y Pardo, A. y** 2002. SPSS 11. Guía para el análisis de datos. Editorial McGraw-Hill. Madrid- España. 736.
- Sadzawka, A., Carrasco, M., Grez., R., Mora, M., Flores, H. y Neaman, A.** 2006. Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile Revision 2006. Serie actas INIA N°34. Instituto de Investigaciones Agropecuarias- INIA. Santiago-Chile. 164.
- Sadzawka, A.** 1990. Métodos de análisis de suelos. Serie La Platina N°16, Instituto de Investigaciones Agropecuarias- INIA. Santiago, Chile.130.
- Samuel, A., Domuta, C., Sandor, M., Vuscan, A. y Domuta, C.** 2010. The estimation of phosphatase activity in soil. *Research Journal of Agricultural Science*. 42 (3): 311- 314.
- Sánchez, C., Mejía, C., Figueroa, C., Esquivia, M., Agudelo, L, Zapata, N. y Gómez, M.** 2005. Estudio de cepas nativas amilolíticas. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*.12 (2): 21-28.
- Sierra, C.** 2001. Fertilización en vides de mesa. *Boletín INIA N° 74*. Instituto de investigaciones Agropecuarias –INIA. La Serena, Chile. 56.
- Šarapatka, B.** 2003. Phosphatase activities (ACP, ALP) in agroecosystem soils. “Doctoral thesis”. Swedish University of Agricultural Science. (Olomouc Republica Checa). 62p.
- Subhani, A., Changyong, H., Zhengmiao, X., Min, L. y El- ghamry, M.** 2001. Impacto of soil environment and agronomic practices on microbial/ dehydrogenase enzyme activity in soil. A review. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 4(3): 333- 338.
- Stevenson, F.**1982. Humus chemistry: Genesis, composition, reactions. Editorial John Wiley and Sons. New York, Estados Unidos. 443.

- Stancheva, I., Geneva, M., Djonova, E., Kaloyanova, N., Sichanova, M., Boychinova, M y Georgie, G.** 2008. Response of alfalfa (*Medicago sativa*) growth at low accessible phosphorus source to the dual inoculation with mycorrhizal fungi and nitrogen fixing bacteria. *General and Applied Plant Physiology*. 34(3-4): 319- 326.
- Styla, K y Sawicka, A.** 2009. Biochemical activity of soil in apple tree (*Malus domestica*) orchard after replantation. *Agronomy Research*. 7(2): 855-864
- Sylvia D. Fuhrmann J, Hartel P, Zuberer D.** 2005. Principles and applications of soil microbiology. Editorial Prentice Hall Inc. New Jersey, Estados Unidos. 550
- Turner, B., Hopkins, B., Haygarth, P. y Ostle, N.** 2002. Glucosidase activity in pasture soils. *Applied Soil Ecology*. 20: 157–162.
- Viña Undurraga S.A.** 2003. Procesamiento del orujo y escobajo, mediante un sistema de compostación. Santiago – Chile. 2.
- Wolna-Maruwka, A., Niewiadomska, A. y Klama, J.** 2009. Biological Activity of Grey-Brown Podzolic Soil Organically Fertilized for Maize Cultivation Monoculture. *Polish Journal of Environmental* . 18(5): 931- 939.

## 8.- ANEXOS

### Anexo 1. Comparación de metales pesados en Compost A y B

<b>Metal pesado</b>	<b>Compost A</b>	<b>Compost B</b>
Arsénico (mg/kg)	15	20
Cadmio (mg/kg)	2	8
Cobre (mg/kg)	100	1000
Cromo (mg/kg)	120	600
Mercurio (mg/kg)	1	4
Níquel (mg/kg)	20	80
Plomo (mg/kg)	100	300
Zinc (mg/kg)	200	2000

Fuente: Jara y Urzúa, 2006