

## Aislamientos de cepas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo en un suelo alfisol venezolano\*

### Isolation of nitrogen-fixing and phosphorus-solubilizing strains in alfisol soils of Venezuela

Learsy Padron<sup>1</sup>, Duilio Gilberto Torres Rodríguez<sup>1</sup>, Jorge Contreras Olmos<sup>1</sup>, Marisol López<sup>2</sup> y Carlos Colmenares<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química y Suelos, Unidad de Investigación en Suelos y Nutrición Mineral de Plantas (UISNMP). Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), Redoma de Agua Viva, Núcleo Tarabana, edificio La Colina. A. P. 3101. 005 841 45274869. (learsy\_17@hotmail.com), (jcontreras@ucla.edu.ve), (ccolmenarez@ucla.edu.ve). <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), Sector el Limón Núcleo Universitario, edificio (1) INIA, Maracay-Aragua C. P. 2001, Venezuela. Tel. 005 841 27522563. (mlopez@inia.gob.ve). <sup>3</sup>Autor para correspondencia: duiliotorres@ucla.edu.ve.

#### Resumen

Para evaluar el potencial de los suelos del Valle Medio del Río Yaracuy para la producción de biofertilizantes, se aislaron cepas fijadoras de nitrógeno (FNVL) y solubilizadoras de fósforo (SF) en suelos sometidos a diferentes condiciones de manejo. Para ello muestra rizosférica en los usos caña de azúcar (*Sacharum officinarum*), maíz (*Zea mayz* L.), lechoza (*Carica papaya*), pasto (*Brachiaria decumbens*), además de un área bajo bosque natural, las muestras fueron tomadas en abril de 2010, las bacterias FNVL y SF fueron aisladas usando medio Ashby y Pikoskaya respectivamente, las principales propiedades químicas y físicas del suelo fueron evaluadas, para establecer su relación con el desarrollo de las cepas. Los resultados muestran que las FN se desarrollaron mejor en los usos pasto y caña de azúcar con 20 y 10 cepas respectivamente, lo que indica que las cepas FNVL se desarrollaron mejor en aquellos manejos con bajo contenido de materia orgánica o manejo intensivo, el mayor número de bacterias SF se observaron en aquellos manejos con mayor contenido de fósforo (lechoza) con 13 colonias, o en usos con adecuadas condiciones físicas para el desarrollo microorganismos (bosque), con 10 colonias.

**Palabras claves:** biofertilizantes, fertilidad, sostenibilidad.

#### Abstract

In order to evaluate the potential of soils in the Middle Valley of Yaracuy River in Venezuela for the production of biofertilizers, nitrogen fixed strains (FBN) and phosphorus-solubilizing strains (SF) were isolated in soils subjected to different management conditions. For this, rizhosferic samples in six different land uses were taken in April, 2010. Sugarcane (*Sacharum officinarum*), maize (*Zea mayz* L.), pawpaw (*Carica papaya*), grass (*Brachiaria decumbens*) and a forest area were sampled. Bacteria FNVL and SF were isolated using Ashby and Pikoskaya, respectively. Chemical and physical properties were evaluated in all soils to determine the relationship between them and the development of the strains. Results showed that Fn developed better in grass and sugarcane, with 20 and 10 strains respectively, indicating that FNVL strains developed better in uses with low amounts of organic matter or intensive management. The greatest number of SF bacteria was found in land uses with a higher amount of phosphorous (papaya), with 13 colonies, or in uses with adequate physical conditions for the growth of microorganisms (natural forest), with 10 colonies.

**Key words:** biofertilizers, fertility, sustainability.

\* Recibido: agosto de 2011  
Aceptado: febrero de 2012

## Introducción

En Venezuela se adelantan acciones institucionales e interdisciplinarias dirigidas a redimensionar y reorientar las prácticas de manejo convencionales basada en altos insumos, que incluye altas aplicaciones de fertilizantes inorgánicos en los principales agrosistemas del país. Manejo que ha ocasionado degradación en todos los componentes del sistema (Torres *et al.*, 2006; López *et al.*, 2008).

Particularmente, en la cuenca media del río Yaracuy, estado Yaracuy, observándose que el uso de los recursos naturales por el sector agrícola en los últimos años ha traído como consecuencia una degradación de los suelos similar a lo ocurrido en la zona alta de la cuenca Mora *et al.* (2003) lo cual ha afectado los rendimientos de cultivos especialmente el cultivo maíz debido entre otras causas a los bajos niveles de materia orgánica en el suelo (Espinoza, 2004), por otro lado, el uso excesivo de fertilizantes ha predominado en esta área, así como el desarrollo de monocultivos como el maíz, caña de azúcar, tomate, cebolla y pimentón, que han dañado la calidad del suelo y disminuyendo la productividad agrícola en muchas zonas del valle.

Asimismo, Arrieche y Mora (2005), señalan que una de las limitaciones en la aplicación de los abonos orgánicos en el campo radica en la disponibilidad del insumo por parte de los productores. En este sentido, enmarcados en este nuevo modelo de desarrollo, han surgido alternativas basadas en el aprovechamiento de los recursos autóctonos y en el ciclaje de nutrientes como son el uso de abonos orgánicos: como estiércoles, compost, lodos residuales y biofertilizantes entre otros, por lo tanto, esta investigación tuvo como objetivo la selección y aislamiento de cepas nativas para la producción de biofertilizantes con la finalidad de brindar una alternativa a los productores a bajo costo, que garantice un mejoramiento del suelo y aporte nutrientes para el desarrollo de sus cultivos a fin de garantizar una producción agrícola sostenible.

## Materiales y métodos

### Descripción del área de estudio

El estudio se realizó en la serie del Valle Medio de Yaracuy, ubicado en el Municipio Peña con coordenadas latitud 10° 02' 38" latitud norte y longitud oeste 69° 05' 20", con una

## Introduction

In Venezuela, institutional and interdisciplinary actions are moving forward so as to redimension and reorient conventional management practices based on high inputs, which include the application of high doses of inorganic fertilizers in the main agricultural systems of the country. This practice has caused the degradation of all the components of the system (Torres *et al.*, 2006; López *et al.*, 2008).

Particularly, in the middle basin of river Yaracuy, in the state of Yaracuy, the use of natural resources by the agricultural sector in recent years has led to a degradation of soils, similar to what has taken place in the high area of the basin Mora *et al.* (2003). This has affected the yields of crops, and especially maize, due to low levels of organic matter on the ground, amongst other factors (Espinoza, 2004). On the other hand, the excessive use of fertilizers has been predominant in this area, as well as maize, sugarcane, tomato, onion and green pepper monocultures, which have damaged soil quality and reduced agricultural productivity in several areas of the valley.

Likewise, Arrieche and Mora (2005) point out that one of the limitations to applying organic fertilizers is the availability of this input for farmers. In this sense, in the framework of this development model, alternatives have arisen, based on the use of native resources and in the cycling of nutrients, such as the use of organic fertilizers, such as manures, compost, residual muds, biofertilizers, and others. Therefore, the aim of this study was to select and isolate native strains to produce biofertilizers, to give farmers a low-cost alternative that guarantees soil improvement and provides nutrients for the growth of their crops and guarantees a sustainable agricultural production.

## Materials and methods

### Description of the area of study

The study was carried out in the series of the Valle Medio de Yaracuy, in the municipal area of Peña, in the latitude 10° 02' 38" north and longitude 69° 05' 20" west, at an altitude of 336 masl. The area has a maximum temperature of 31.3 °C, and a minimum temperature of 21.71, a relative humidity of 82.24%, and a monthly rainfall of 767.5 mm.

altitud de 336 msnm, la zona se caracteriza por tener una temperatura máxima 31.3 y mínima de 21.71, humedad relativa 82.24%, con una precipitación mensual de 767.5 mm. Los suelos fueron tomados de la estación experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) el cual está clasificado taxonómicamente como un Oxic Haplustals familia arcillosa fina con pH de 6.7, contenido de materia orgánica 1.6% y valores de fósforo y potasio de 3 y 120 mg kg respectivamente.

#### **Uso- maíz**

Está ubicado en el INIA en las coordenadas UTM-SAM (N490247 E1110229), en este tipo de uso de tierra se le realizó un tipo de manejo intensivo, para lo cual se realizó para la preparación del suelo un pase de big-rome, incorporación de abono, también de ejecutó un plan de fertilización de 100-50-50. Luego se hizo un control de maleza con 1.3 kg ha<sup>-1</sup> de atrazina y 70 kg ha<sup>-1</sup> de ACCEN. Se utilizó 1 L de lannate y para el control de los bachacos ATILAN.

#### **Uso- caña de azúcar**

Ubicado en el INIA en las coordenadas UTM-SAM (N490097 E1100041), ésta unidad de producción se caracteriza por tener un manejo intensivo de la tierra con mecanización convencional, en la cual se realizan labores agronómicas como (deforestación, nivelación del terreno, dos subsolados en los primeros 60 cm de profundidad del suelo luego un arado hasta una profundidad de 30-40 cm, un rastreado), se realizó una aplicación de fertilizantes en los primeros meses del desarrollo del cultivo N-F-K (100-100-250) kg.

#### **Uso- bosque natural**

Ubicado en el INIA en las coordenadas UTM-SAM (N490405 E1110494), este tipo de uso se mantiene en condiciones naturales, sin la realización de ningún manejo agronómico.

#### **Uso- lechosa**

Ubicado en el municipio Peña en las coordenadas UTM-SAM (N495388 E1110005, éste sistema de manejo contiene un plan de fertilización, el cual es: ½ kg de fertilizante fórmula 12/24/12 y 1 kg de estiércol por planta, su riego es por un sistema por goteo, se observó que las plantas presentaban virus se aplicó fungicidas y insecticidas para el manejo de lechosa.

Soil samples were taken from the experimental station of the National Agriculture Investigation Institute (INIA), which is taxonomically classified as a Oxic Haplustals, of the fine clay family, with a pH of 6.7, it has an organic matter content of 1.6% and values for phosphorous and potassium of 3 and 120 mg kg respectively.

#### **Use- maize**

This is located in INIA, on coordinates UTM-SAM (N490247 E1110229); this type of land use was given intensive management, and for the preparation of soil for this purpose, the soil was plowed, manure was applied, and a 100-50-50 fertilization plan was carried out. This was followed by weeding with 1.3 kg ha<sup>-1</sup> of atrazine and 70 kg ha<sup>-1</sup> of ACCEN. One liter of Lannate was used, and for the control of ants, ATILAN.

#### **Use- sugarcane**

Located in INIA on coordinates UTM-SAM (N490097 E1100041), the farming unit has an intensive land management using conventional mechanization, and it is used for agronomic tasks such as deforestation, soil leveling, two deep plowing passes in the first 60 cm of depth in the soil, followed by a plow 30-40 cm deep, a harrow, fertilizer was applied in the first months of the crop's growth N-F-K (100-100-250) kg.

#### **Use- natural forest**

Located in INIA on coordinates UTM-SAM (N490405 E1110494), this type of use is kept in natural conditions, with no agronomic handling of any type.

#### **Use- papaya**

Located in the municipal area of Peña, on coordinates UTM-SAM (N 495388 E1110005, this system contains a fertilization plan as follows: ½ kg of fertilizer formula 12/24/12 and 1 kg of manure per plant. It is irrigated by drip, plants showed the presence of a virus and fungicides and insecticides were applied in the handling of papaya.

#### **Use- grass**

Its coordinates are UTM-SAM N 495649 E 1109051; this type of land use is found under natural conditions, with no agronomic handling of any type.

## Uso- pasto

Sus coordenadas son UTM-SAMN 495649 E 1109051, este tipo de uso de tierra se encuentra en condiciones naturales, sin ningún manejo agrícola.

## Colecta de muestra de suelo para el aislamiento de cepas

El suelo colectado fue de la zona próxima a las raíces (rizosfera), con 50% de la proliferación del cultivo. Las muestras de los suelos se colocaron en unas bolsas libre de algún contaminante previamente identificadas con sus datos, luego se llevó al laboratorio para aislar los microorganismos (cepas) y hacer las evaluaciones correspondientes. En el laboratorio, la muestra de suelo se mezcló y se colocó a secar al aire sin llegar a la desecación extrema (Martínez-Viera *et al.*, 2006).

## Colecta de muestra de suelo con fines de fertilidad

Se reunieron las submuestras por cada tipo de uso de tierra 1 kg de suelo a una profundidad de 0-20 cm en la zona más cercana a las raíces del cultivo, las muestras se colocaron en bolsas identificadas y fueron llevadas al laboratorio, luego se hicieron las muestra compuesta por cada tipo de uso de tierra, las variables evaluadas fueron: pH, conductividad eléctrica (CE), capacidad de intercambio catiónico (CIC), disponibilidad de macronutrientes (N, P, K), las mismas se determinaron siguiendo la metodología de análisis de suelo con fines de fertilización (Instituto de Edafología, 1993).

## Colecta de muestra de suelo con fines físicos

Se colectaron muestras usando un barreno tipo Uhland para recoger muestra de suelo no disturba, tomando las muestras a dos profundidades de 0-10 cm y 0-20 cm, con el objetivo de identificar la unidad de suelos. Las variables físicas fueron: densidad aparente, macroporosidad, microporosidad, conductividad hidráulica saturada, según la metodología descrita por Pla (1983).

## Aislamiento de cepas solubilizadora de fósforo (SF)

Se pesó 1 gr de suelo rizosférico, se suspendió en agua estéril y se realizó diluciones hasta  $10^{-9}$ , luego se extendió 0.1 mL en cajas petri conteniendo medio de cultivo Pikovskaya y se incubó durante 5 días, posteriormente se aislaron las colonias que formaron halo transparente-como indicador de capacidad de solubilizar fósforo. Estas cepas fueron utilizadas para preparar el biofertilizante (preinoculo).

## Collecting soil samples for strain isolation

The soil gathered was surrounding the roots (rhizosphere), after 50% of the crop's proliferation. Soil samples were placed in bags, free of any pollution-free bags, previously labeled with its data, and were later taken to the laboratory to isolate microorganisms (strains) and carry out the corresponding evaluations. In the lab, the soil sample was mixed and placed to dry, avoiding its reaching extreme dryness (Martínez-Viera *et al.*, 2006).

## Collecting soil samples for fertility purposes

Subsamples were gathered for each type of land use (1 kg of soil at a depth of 0-20 cm) in the area nearest to the roots. Samples were placed in labeled bags and taken to the lab, and later compound samples were made for each type of land use. The variables were pH, electrical conductivity (CE), capacity of cationic exchange (CIC), and availability of macronutrients (N, P, K), and were established following the soil analysis method with purposes of fertilization (Instituto de Edafología, 1993).

## Collecting soil samples for physical purposes

Samples were gathered using a Uhland borer to take samples of soil, taking the samples from two depths, 0-10 cm and 0-20 cm, in order to identify the soil unit. The physical variables were apparent density, macroporosity, microporosity, and saturated hydraulic conductivity, according to the methodology described by Pla (1983).

## Isolation of phosphorous- solubilizing strains (SF)

One gram of rhizospheric soil was weighed, suspended in sterile water, and diluted up to  $10^{-9}$ . Then 0.1 mL was extended in petri dishes with Pikovskaya culture and incubated for 5 days. Later, colonies were isolated, and they formed a transparent halo, as an indicator of its capability to solubilize phosphorous. These strains were used to prepare the biofertilizer (preinoculant).

## Preparation of the biofertilizer (preinoculant)

The preinoculant was prepared using strains FN and SF, previously isolated in the Ashby and Pikovskaya media, respectively, cultivated in culture media 48 h before their use. We worked on a Vf/Vm ratio of 10:1.

### Preparación del biofertilizante (preinoculo)

El preinoculo se preparó a partir de las cepas FN y SF previamente aisladas en los medios Ashby y Pikovskaya respectivamente, sembradas en medios de cultivo 48 h antes de ser utilizadas. Se trabajó con una relación Vf/Vm de 10:1.

Donde: Vf= volumen del frasco y Vm= volumen del medio, siguiendo las recomendaciones sugeridas por (Martínez *et al.*, 2006).

### Pruebas de promoción de germinación de la planta

Se efectuó un recuento de las semillas germinadas en los tratamientos: testigo (sin inoculó), con cepa fijadoras de nitrógeno y con cepa solubilizadora de fósforo entre los 4 y los 10 días después de la siembra, así como del número de plantas en las que apareció la primera hoja verdadera (hoja bandera) antes de los 7 días y hasta los 10 días (Martínez *et al.*, 2006).

### Análisis de los resultados

Se realizó un análisis de varianza (ANAVAR) para determinar diferencias entre los tipos de uso las propiedades de suelo.

## Resultados y discusión

Anticipadamente a la discusión de los resultados se determinó la clase textural de los diferentes usos, debido a que la textura tiene efectos sobre el comportamiento del suelo, en el Cuadro 1, se presentan los valores de limo, arena y arcilla para los usos evaluados.

**Cuadro 1. Porcentaje de arena, limo y arcilla en los diferentes usos evaluados en el Valle medio del Río Yaracuy.**  
**Table 1. Percentage of sand, lime and clay in the different uses evaluated in the middle Valley of River Yaracuy.**

Uso	Bosque	Caña	Maíz	Lechosa	Pasto
Arena (%)	52	38	54	24	58
Limo (%)	23	33	25	49	33
Arcilla (%)	25	29	21	21	9
Clase Textural	Franco arcillo-arenoso	Franco-arcilloso	Franco arcillo-arenoso	Franco-limoso	Franco

Where: Vf= volume of the jar, and Vm= volume of the media, following recommendations by Martínez *et al.*, 2006).

### Plant germination promotion tests

Germinated seeds in the following treatments: control (no inoculant), with nitrogen-fixating strain and with phosphorous-solubilizing strain 4-10 days after planting, as well as the number of plants in which the first true leaf appeared (flag leaf) before 7 days and up to 10 days (Martínez *et al.*, 2006).

### Analysis of results

A variance analysis (ANAVAR) was performed to establish differences between types of use of soil properties.

## Results and discussion

Before discussing results, the textural type of the different soil types was established, since the texture has an effect on soil behavior. Table 1 shows the values for lime, sand and clay for the uses evaluated.

### Physical and chemical characterization of the soils under study

Before isolating the strains, the soil was physically and chemically characterized in order to establish the existing relations between its quality and the presence of groups of microorganisms evaluated. Table 2 shows the results obtained for the physical variables of the soil.

The values for apparent density (Table 2) were significantly higher ( $p < 0.05$ ) in the uses with grass and maize, in comparison to values obtained for papaya, sugarcane and

### Caracterización física y química de los suelos bajo estudio

Previamente al aislamiento de las cepas se caracterizó física y químicamente el suelo, con el objeto de establecer las relaciones existentes entre la calidad del mismo y la presencia de los grupos de microorganismos evaluados en el Cuadro 2, se presentan los resultados obtenidos para las variables físicas de suelo.

forest. This reflects and advances stage of compactness, since Doran (2000) expected values of under  $1.40 \text{ g cm}^3$  in soils with textures Loamy and Loamy clayey. In this case, in all uses, except for forestry, values are above the critical level. Arshad *et al.* (1996), pointed out that values higher than  $1.69 \text{ g cm}^3$  in this textural type can affect radicle growth. These physical problems may be related to the excessive use of machinery. In the case of the uses forestry and papaya, the increase

**Cuadro 2. Valores promedios de las variables físicas evaluadas en cinco usos del suelo del Valle Medio del Río Yaracuy.**  
**Table 2. Average values of the physical variables evaluated in five uses of soil of the middle Valley of the Yaracuy River.**

Variables físicas	Usos					
	Bosque	Caña	Maíz	Lechosa	Pasto	
Da	0-10	1.23 a	1.44 b	1.52 b	1.47 b	1.58 b
	10-20	1.43 a	1.43 a	1.65 b	1.40 a	1.65 b
Mp	0-10	12.98 a	14.43 a	20.61 b	18.96 b	17.88 b
	10-20	11.84 a	16.37 a	12.90 a	18.68 b	14.47 a
PT	0-10	59.87 b	49.50 a	47.72 a	44.95 a	44.64 a
	10-20	52.21 c	49.39 c	38.65 a	46.16 b	39.10 a
MP	0-10	46.89 d	35.07 c	24.34 a	28.76 b	26.83 b
	10-20	40.37 c	32.99 b	25.75 a	27.48 a	24.63 a

Da= densidad aparente; Mp= macroposidad; PT= porosidad total; MO= microporosidad. Letras distintas indican diferencias significativas.  $p < 0.05$ .

Los valores de densidad aparente (Cuadro 2), fueron significativamente superiores ( $p < 0.05$ ) en los usos pastos, y maíz al compararse con los valores obtenidos en los usos lechosa, caña y bosque. Esto refleja un avanzado proceso de compactación, dado que Doran (2000) espera valores inferiores a  $1.40 \text{ g cm}^3$  en suelos de texturas Franco y Franco arcillosa, en este caso en todos los usos a excepción del bosque los valores están por encima del nivel crítico. Arshad *et al.* (1996) señalaron que valores por encima de  $1.69 \text{ g cm}^3$  en esta clase texturales pueden afectar el desarrollo radical, estos problemas físicos pueden estar asociados al uso excesivo de maquinaria, en el caso de los usos bosque y lechosa el incremento de la materia orgánica, pudo reducir los valores de densidad aparente, producto del mejoramiento de las condiciones estructurales del suelo.

Con respecto a la porosidad total, los valores más altos fueron encontrados en el uso bosque, debido a que la incorporación de materia orgánica y el tiempo de descanso, mejoran la estructura del suelo y en consecuencia la porosidad, en comparación a aquellos uso donde el uso de maquinaria es intensivo, trae como consecuencia el deterioro de la estructura del suelo, tal como fue indicado para los usos maíz y caña, cuyos valores de porosidad fueron inferiores

of organic matter could reduce the values of apparent density, due to the improvement of the soil's structural conditions.

For total porosity, the highest values were found in the use forestry, since the incorporation of organic matter and time of inactivity improve the soil's structure and consequently, its porosity, as opposed to those in which the use of machinery is intensive, causing the soil structure to deteriorate, as pointed out for the uses maize and sugarcane, the values of which were below 40%. Arias (2001) pointed out that conventional tillage destroys the structure of the soil, due to the movement of the macroaggregates.

For macroporosity we observed that in the uses maize and grass, there was a drastic reduction in the amount of macropores, especially in the second depth of sampling. These results show that excessive mechanization lead to the formation of a compact layer, at 10-20 cm below the surface. Mora and Toro (2007) and De la Heras *et al.* (2003) point out that the destruction of macropores leads to a greater proportion of micropores, which hinders water movement, creating an oxygen deficit that affects the activity of microorganisms. In this sense, the values for microporosity were significantly lower ( $p < 0.05$ ) in forestry and sugarcane

a 40%, Arias (2001) señalan que la labranza convencional destruye la estructura del suelo, producto de la remoción de los macroagregados.

Con relación a la macroporosidad, se observó que en los usos maíz y pasto, ocurrió una drástica reducción del contenido de macroporos, especialmente a la segunda profundidad de muestreo, estos resultados evidencian que la excesiva mecanización llevan a la formación de una capa compactada a la profundidad de 10-20 cm, Mora y Toro (2007) y De la Heras *et al.* (2003), señalan que la destrucción de los macroporos conlleva a una mayor proporción de microporos, lo cual dificulta el movimiento de agua, creando condiciones de déficit de oxígeno que afecta la actividad de los microorganismos. En ese sentido los valores de microporosidad, fueron significativamente menores ( $p < 0.05$ ) en los usos bosque y caña al ser comparado con los valores reportados para los usos maíz, lechosa y pasto, mientras que los usos bosque y caña presentaron los valores más altos, debido tanto a problemas de deterioro estructural del suelo como a incrementos en los contenidos de arcillas.

Una vez analizadas las variables físicas, en el Cuadro 3, se presentan los resultados para las variables químicas evaluadas.

**Cuadro 3. Valores promedios de las variables química evaluadas en cinco del suelo del valle Medio del Río Yaracuy.**  
**Table 3. Average values of the chemical variables evaluated in five soil uses in the middle Valley of the Yaracuy River.**

Variables		Usos				
		Bosque	Caña	Maíz	Lechosa	Pasto
pH	0-20 cm	7.4 b	7.6 b	6.5 a	7.2 b	7.6 b
C.E (dS/m)	0-20 cm	0.28 b	0.28 b	0.08 a	0.74 c	0.08 a
M.O (%)	0-20 cm	3.6 b	1.6 a	1.3 a	4.5 c	1.5 a
P (mg/kg)	0-20 cm	2 a	4 a	5 a	131 c	13 b
K (mg/kg)	0-20 cm	105 c	91 c	425 a	265 b	207 b
Ca (mg/kg)	0-20 cm	3 965 c	1 938 b	397 a	4154 c	3397 c
Mg (mg/kg)	0-20 cm	192 b	180 b	91 c	265 a	207 b

CE= conductividad eléctrica; MO= materia orgánica; P= fósforo disponible; K= potasio; Ca= calcio, Mg, Magnesio. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

En el Cuadro 3 se observó que el incremento de la materia orgánica del suelo fue encontrado en los usos lechosa y bosque y que está estrechamente relacionado con la cantidad de residuos orgánicos incorporados al mismos, ya sea por el aporte en forma de estiércol o por la hojarasca que se incorpora progresivamente en el bosque. El incremento de

when compared to the values obtained for maize, papaya and grass, whereas forestry and sugarcane showed the highest values, due to structural deterioration problems in the soil, as well as increases in the amounts of clay.

After analyzing the physical variables, we analyzed the chemical variables, shown in Table 3.

Table 3 shows that an increase in the organic matter of the soil was found in papaya and forestry and that it is related to the amount of organic residues added to the soil, whether as manure or stubble that is slowly mixed with the soil in the forest. The increase in organic matter was related to a greater amount of nutrients in the soil. In the case of P, values were significantly higher in papaya ( $p < 0.05$ ), due to organic fertilization. We noticed that the highest amount of SF bacteria in uses with large amounts of this Rodríguez *et al.* (2009) indicate that the rises in the amounts of organic matter lead to greater biological activity, since the highest contribution of organic carbon helps microorganisms reproduce. These results contradict those reported by López *et al.* (2008), who indicate that SF strains are greater in soils with lower levels of this element. In the case of K, maize was the use that showed the highest values of this nutrient in comparison to papaya and grass. This is due mostly to the high doses of K. However, in

maize, despite showing a better nutritional state, the development of microorganisms was lower, and this agrees with reports by Martínez *et al.* (2008), who claim that under conventional handling, the development of microorganisms is lower, due mostly to the physical deterioration of the soil.

materia orgánica, estuvo relacionado a un mayor contenido de nutrientes en el suelo, en el caso del P los valores de este fueron significativamente más altos en el uso lechosa ( $p < 0.05$ ), producto de la fertilización orgánica, observándose que la mayor cantidad de bacterias SF en usos con altos contenidos de este Rodríguez *et al.* (2009), señalan que los incrementos en los contenidos de materia orgánica conllevan a una mayor actividad biológica, dado a que el mayor aporte de carbono orgánico, ayuda a la multiplicación de los microorganismos. Éstos resultados contradicen a lo reportados por López *et al.* (2008), quienes señalan que las cepas SF presentan mayor en suelo bajos niveles de este elemento. En el caso del K, el uso maíz fue el que presentó los valores más altos de este nutriente en comparación a los usos lechosa y pasto y esto se debe fundamentalmente a las altas dosis que se aplican de este, no obstante en el uso maíz a pesar de presentar un mejor estado nutricional el desarrollo de los microorganismos fue menor, coincidiendo con lo reportado por Martínez *et al.* (2008), que señalan que bajo manejo convencional el desarrollo de los microorganismos es menor, debido fundamentalmente al deterioro físico del suelo.

Con respecto al pH este fue mayor en los usos bosque, lechosa, caña y pasto en comparación al uso maíz, posiblemente, los microorganismos que más se ven favorecidos con los valores altos de pH sobre las bacterias SF, Torres y Lizarazo (2007). Con respecto a la conductividad eléctrica los valores fueron bajo en todos los usos, encontrándose por debajo de los niveles críticos, reportados por Florentino (1998) y Doran (2000), quienes señalan que suelos con valores menores a 0.98 dS/m son considerados no salinos, y no tienen efectos nocivos sobre cultivos o microorganismos, mientras que valores superiores a estos afectan el desarrollo, como lo menciona Torres *et al.* (2009).

### **Aislamiento de cepas FNVL y SF**

En los Cuadro 4, se observa un mayor crecimiento de las colonias FNVL en comparación a las SF, dado que las FNVL se desarrollan en mayor cantidad y mayor velocidad, además que las SF son afectadas por la baja disponibilidad de este elemento en suelo. El mayor desarrollo de bacterias FNVL, se observó en los usos caña y pasto. Esto se a que el tiempo de descanso mejor sustancialmente las condiciones físicas del suelo, lo que permitió un mejor desarrollo de las mismas; asimismo, la no aplicación de agroquímicos contribuyó a un mejor desarrollo de los microorganismos, Sivila y Angulo (2006), expresan que la actividad de los microorganismos del suelo es el parámetro que mejor está relacionado con el

Regarding pH, this was higher in the forestry, papaya, sugarcane and grass uses, than it was for maize. Possibly, the microorganisms that have the benefits of the highest pH values on bacteria SF, Torres and Lizarazo (2007). For electric conductivity, values were low for all land uses, even below critical levels reported by Florentino (1998) and Doran (2000) who claim that values lower than 0.98 dS/m are considered non-saline and have no harmful effects on crops or microorganisms, whereas values above these affect growth, as mentioned by Torres *et al.* (2009).

### **Isolation of FNVL and SF strains**

Table 4 shows a greater growth of colonies FNVL than in SF, due to the fact that FNVL grow faster and in greater amounts, as well as SF being affected by low availabilities of this element in the soil. The greatest growth of FNVL bacteria was observed in sugarcane and grass. This was because resting time improved the soil's physical conditions substantially, which allowed the bacteria to develop better. Likewise, the non-application of agrochemicals helped microorganisms develop better. Sivila and Angulo (2006), state that the activity of microorganisms in the soil is the parameter that is best related with leaving it unmoved. The lower values of FNVL bacteria can be due to the excessive mechanization that created adverse conditions for the development of microorganisms such as: anaerobiosis, soil compacting and no plant cover. Jaramillo *et al.* (2004) claim that these conditions reduce biodiversity and the activity of microorganisms.

Despite sugarcane being a conventional land use, the number of FNVL strains were higher than uses under organic handling. Ghering *et al.* (2005) and Peña-Venegas (2004), indicate that in conventional agricultural systems, with little cycling of nutrients and no external nitrogen sources, symbiotic fixation is boosted, increasing the microorganisms that can fixate it.

Forestry and papaya, despite the high values for organic matter, displayed low FNVL populations. Mantilla *et al.* (2009), indicate that high nitrogen values can affect the establishment of these bacteria and stimulate the presence of other microbial populations. These authors found less aerobic and microaerophilic bacteria with a potential to fixate nitrogen in a forest with high levels of organic matter.

descanso del mismo. En el caso del uso los menores valores de bacterias FNVL, pueden atribuirse a la excesiva mecanización que creó condiciones adversas para el desarrollo de los microorganismos como: anaerobiosis, compactación del suelo y ausencia de cobertura vegetal. Jaramillo *et al.* (2004), refieren que éstas condiciones, reducen la biodiversidad y la actividad de los microorganismos.

For the isolation of phosphorous solubilizing strains, five strains were also taken and labelled as SF187, SF188, SF189, SF190.1 and SF191.

Regarding the SF bacteria, the highest number of colonies was reported in papaya land use, with 20 colonies, due to organic fertilization, which increases the levels of P,

**Cuadro 4. Cepas fijadoras de nitrógeno seleccionadas.**  
**Table 4. Selected nitrogen-fixating strains.**

TUT	Núm. muestra	Núm. colonia	Observación de la morfología	Cepa seleccionada
Caña de azúcar	FN188	10	Borde regular, pequeña, brillante	No
Maíz	FN 187	3	Borde regular, pequeña plana	Si
Bosque	FN 189	3	No se observo por apariencia de hongo.	Si
Lechosa	FN 190	2	Borde regular, grande, brillante	No creció
Pasto	FN 191.1	20	Borde regular, cremosa, brillante	Si

En el uso caña a pesar de ser un manejo convencional, el número de cepas FNVL fueron superiores en comparación a los usos bajo manejo orgánico, Ghering *et al.* (2005) y Peña-Venegas (2004), señalan que en sistemas agrícolas convencionales, con poco ciclaje de nutrientes y en ausencia de fuentes externas de nitrógeno, la fijación simbiótica se ve potenciada, incrementándose los microorganismos capaces de fijar el mismo.

Contradictoriamente en los usos bosque y lechosa, a pesar de los altos valores de materia orgánica, presentaron poblaciones baja de FNVL, Mantilla *et al.* (2009), señalan que valores altos de nitrógeno pueden afectar el establecimiento de estas bacterias y estimular la presencia de otras poblaciones microbianas, estos autores encontraron una menor abundancia de bacterias aerobias y microaerofilas con potencial para fijar nitrógeno en un bosque con altos niveles de materia orgánica.

En cuanto al aislamiento de las cepas solubilizadoras de fósforo se tomaron también cinco cepas. Las cuales fueron identificadas de esta manera SF187, SF188, SF189, SF190.1 y SF191.

Con respecto a las bacterias SF, el mayor número de colonias fue reportado en el uso lechosa, con 20 colonias, esto debido a la fertilización orgánica, lo cual incrementa los niveles de P, promoviendo el desarrollo de estas cepas, estos resultados coinciden con los reportados por Torres *et al.* (2009) quienes encontraron que la aplicación de materia orgánica favoreció el desarrollo de los microorganismos, especialmente los SF. En el

promoting the development of these strains. These results coincide with those reported by Torres *et al.* (2009) who found that the use of organic matter improved the growth of microorganisms, and especially the SF. In the use forestry, the number of SF bacteria was also important, due to the high levels of organic matter and to adequate physical conditions of the soil, which improves the growth of microorganisms. Torres *et al.* (2009) consider that organic fertilization and resting time are key factors that contribute to increasing the growth of microorganisms. Regarding the use maize, results found were the results expected, given that excessive mechanization and the excessive use of agrochemicals deteriorated soil quality, and affected the growth of microorganisms. Ferreras *et al.* (2007) and López *et al.* (2008), point out that the inadequate handling of lands have lead to the deterioration of the soil structure and amounts of organic matter, therefore affecting the growth of beneficial organisms in the soil.

### Biostimulation tests

Table 6 shows the results obtained for the biostimulation test, in which we can see that the greatest radicle growth occurred in the capsules with maize seeds (*Zea miz L.*) inoculated with the strains FNVL187 and NVL 190, with values statistically higher ( $p < 0.05$ ) than the rest of the treatments applied, whereas in the evaluation of strains in the bean *Phaseolus vulgaris L.* plantations, the most efficient strains were FNVL

uso bosque el número de bacterias SF, también fue importante, esto debido tanto a los altos niveles de materia orgánica, como a unas adecuadas condiciones físicas del suelo, lo cual favorece el desarrollo de los microorganismos. Torres *et al.* (2009), consideran que la fertilización orgánica y el tiempo de descanso son factores claves que contribuyen a incrementar el desarrollo de los microorganismos. En relación al uso maíz, los resultados encontrados fueron los esperados, dado que la excesiva mecanización y el uso excesivo de agroquímicos, desmejoraron la calidad del suelo, afectando el desarrollo de los microorganismos. Ferreras *et al.* (2007) y López *et al.* (2008), señalan que el manejo inadecuado de las tierras han conducido al deterioro de la estructura del suelo y la reducción de los contenidos de materia orgánica, afectando de esta manera el desarrollo de los organismos benéficos del suelo (Cuadro 5).

#### Cuadro 5. Cepas solubilizadoras de fósforo.

Table 5. Phosphorous solubilizing strains.

TUT	Núm. de la muestra	Núm. de colonia	Observación de la morfología	Cepa seleccionada
Caña de azúcar	SF188	7	Borde regular, con buen halo, crema con el centro más oscuro (parece huevo frito)	Si
Maíz	SF187	3	Borde irregular, halo sulubilizadora amarillosa	Si
Bosque	SF189	10	Borde regular, marrón claro, pequeña, con halo	No creció
Lechosa	SF190.1	13	Borde regular, cremosa, blanca, con halo	No creció
Pasto	SF191.1	1	Borde regular, crema oscura en el centro, Si aplanada, grande	

#### Pruebas de bioestimulación

En el Cuadro 6, se presentan los resultados obtenidos en la prueba de bioestimulación, los mismos muestran que el mayor crecimiento radicular se observaron en las cápsulas con semillas de maíz (*Zea mays* L.) inoculados con las cepas FNVL187 y NVL190 con valores estadísticamente superiores ( $p < 0.05$ ) al resto de los tratamientos aplicados, mientras que cuando se evaluaron las cepas en el cultivo de caraota *Phaseolus vulgaris* L., las cepas más eficientes fueron la FNVL 187 y la FNVL191 respectivamente, estos resultados obedecen a que las bacterias expresan su eficiencia de inoculación en este cultivo, mientras que el resto de las cepas no, Landis (2000) y Peña y Reyez (2007), estudiaron que los niveles altos de nitrógeno promueven una rápida división y elongación celular, demostrándose así la importancia de la aplicación de estas cepas para estimular el crecimiento de las plántulas.

Estos resultados coinciden con los reportados por López *et al.* (2008), que a partir de la inoculación de cepas FNVL observó un incremento en los porcentajes de germinación

187 and FNVL 191 respectively. These results are due to the fact that bacteria express their inoculation efficiency in this crop, whereas the remaining strains do not. Landis (2000) and Peña and Reyez (2007) studied that high nitrogen levels promote a quick cell division and elongation, therefore showing the importance of the application of these strains to stimulate the growth of the plantlets.

These results agree with those reported by López *et al.* (2008) in which, after inoculating FNVL strains, germination percentages rose from 52 to 75% in inoculated plants. Likewise, Constantino (2010) carried out an investigation to increase and accelerate the germination process in Carica, and found that the increase was due to the contribution of growth-promoting hormones.

#### Cuadro 6. Efecto de la inoculación con cepas FNVL y SF sobre la longitud de la radícula de plántulas de maíz.

Table 6. Effect of inoculation with FNVL and SF strains in radicle length in maize plantlets.

Cepa	Maíz	Frijol
FN187	3.35 c	3.46 c
FN190	3.48 c	0
FN191	2.15 b	2.98 b
SF187.1	1.48 a	0.64 a
SF 188.1	1.86 a	3.00 b
SF 191.1	2.23 b	2.25 b
Control	2.20 b	2.05 b

For phosphorous solubilizers, the most efficient strains were SF 188.1 and SF 197.1, which promoted a greater radicle growth than the rest of the strains evaluated in

de 52 a 75% en las plantas inoculadas. Asimismo, Constantino (2010), realizó una investigación con el objeto de incrementar y acelerar el proceso de germinación de semillas de Carica, encontrando que el incremento obedeció al aporte de hormonas promotoras de crecimiento

Con respecto a las solubilizadoras de fósforo las cepas más eficientes fueron la SF 188.1 y la SF 197.1 quienes promovieron un mayor desarrollo radicular en comparación al resto de las cepas evaluadas en el cultivo de maíz, mientras en el cultivo de la caraota la cepa más eficiente fue la SF 191.1. Ensayos en invernadero en *Capsicum annuum* (Altamirano, 2002) y en *Phaseolus vulgaris* L. (Romano *et al.*, 2003), así como en forestales como cedro (Altamirano *et al.*, 2000) han demostrado el potencial de bacterias solubilizadoras de P, (específicamente del género *Pseudomonas* y *Bacillus*), para promover el crecimiento de plantas

## Conclusiones

Las cepas FNVL se desarrollaron mejor en aquellos manejos con bajo contenido de materia orgánica o manejo intensivo, dado que en estas condiciones se estimula mejor la fijación simbiótica de nitrógeno. Mientras que el mayor desarrollo de bacterias SF se observó en aquellos manejos con mayor contenido de fósforo, ya sea bajo fertilización orgánica o inorgánica.

El uso excesivo de maquinaria y agroquímicos, disminuyó la calidad del suelo, afectando el desarrollo de las FNVL y SF, tal como se verificó en el uso maíz.

Las cepas provenientes de condiciones de estrés tuvieron un mayor potencial de bioestimulación, tanto en las semillas de maíz, como en las semillas de caraota, siendo estas las FNVL 187 y la SF 188.1, que fueron aisladas de los usos maíz y caña respectivamente, estas cepas fueron la que mejor promovieron el desarrollo de la radícula.

## Agradecimiento

Los autores(as) agradecen a las instituciones que financiaron el proceso de investigación: INIA, proyecto ID-ARA-05-710; FONACIT, S1-2002000391 y al Consejo de Desarrollo Científico y Tecnológico de la UCLA (CDCHT) proyecto registrado bajo el código 005-RAG-2008.

maize plantations, whereas in bean plantations, the most efficient strain was SF 191.1. Greenhouse tests in *Capsicum annuum* (Altamirano, 2002) and in *Phaseolus vulgaris* L. (Romano *et al.*, 2003), as well as in forests such as cedars (Altamirano *et al.*, 2000) have shown the potential of phosphorous solubilizing bacteria, (specifically of the genera *Pseudomonas* and *Bacillus*) to promote plant growth.

## Conclusions

The FNVL strains developed best in managements with low contents of organic matter or intensive handling, since in these conditions, symbiotic nitrogen is stimulated under these conditions, whereas the greatest development of SF bacteria was observed in managements with higher contents of phosphorous, whether in organic or inorganic fertilization.

The excessive use of machinery and agrochemicals reduced soil quality, affecting the development of FNVL and SF, as verified in the land use maize.

Strains taken from stress-filled conditions had a greater biostimulation potential in both maize seeds and bean seeds; these were the FNVL 187 and the SF 188.1 that were isolated of the land uses maize and sugarcane, respectively. These strains promoted radicle growth best.

*End of the English version*



## Literatura citada

Altamirano, F. E.; Arias, M. P.; Lázaro, M. E. and Zankar, G. Del C. 2000. Effects of Rhizobacteria on the growth of *Cedrela lilloi* C. CD (Cedro coya o C. peludo). 5th International PGPR Workshop. Carlos Paz, Córdoba, Argentina. In: Pérez-Bradán, C.; Altamirano, F.; Torres, N. y Corvalán, E. 2005. Efecto de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fósforo en *Phaseolus vulgaris* bajo siembra directa. Informe de Investigación. INTA Estación experimental Salta. 5 p.

- Altamirano, F. E. 2002. ¿Una pseudomonas PGPR o DBR? XIX Jornadas Científicas de la Asociación de Biología de Tucumán. Tafi del Valle Tucumán. *In*: Pérez-Bradán, C.; Altamirano, F.; Tores, N. y Corvalán, E. 2005. Efecto de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fósforo en *Phaseolus vulgaris* bajo siembra directa. Informe de Investigación. INTA Estación experimental Salta. 5 p.
- Aparicio, M. 2009. Impacto de diferentes tipos de uso de tierras sobre el desarrollo de cepas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo en suelos de la serie de la depresión de Quibor y Chaimare del Estado Lara. Tesis. Facultad de Agronomía. UCLA. Lara. 87 P.
- Arias, A. C. 2001. Propiedades de suelos tropicales. Suelos tropicales. 1 edic. Ed: UNED. San José Costa Rica. 188 p.
- Arched, M. A.; Lowery, B. and Grossman, B. 1996. Methods for assessing soil quality. Soil Science Society Am. Inc. 139 p.
- Arrieché, I.; Mora, O. 2005. Efecto de la aplicación de residuos orgánicos sobre el cultivo del maíz en suelos degradados del Estado Yaracuy, Venezuela. *Bioagro*. 17(3):155-159.
- Arshad, M. A.; Lowery, B. and Grossman, B. 1996. Methods for assessing soil quality. Soil Science Society of America. Inc. 139 p.
- Constantino, M.; Gómez-Alvarez, R.; Alvarez-Soliz, J.; Fernández, J. y Espin, G. 2010. Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 12(2):103-115.
- De la Heras, J.; Concepción, F. y Meco, R. 2003. Manejo ecológico de los cultivos de secano en Castilla la Mancha. Ediciones de la Universidad Castilla la Mancha. 376 p.
- Doran, D. C. 2000. Guía para la evaluación de calidad y salud del suelo. Soil Quality Institute. 72 p.
- Espinoza, Y. 2004. Calidad de la materia orgánica bajo diferentes prácticas de manejo en un suelo ácido tropical. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 21:126-140.
- Ferreras, L. A.; Magra, G.; Besson, P. y Kovalevski, E. G. 2007. Indicadores de calidad física en suelos de la Región Pampeana Norte de Argentina bajo siembra directa. *Ciencia del Suelo*. 25:159-172.
- Florentino, A. 1998. Guía para la evaluación de la degradación del suelo y de la sostenibilidad del uso de la tierra: selección de indicadores físicos. Valores críticos. Instituto de Edafología. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. Venezuela. 12 p.
- hering, C.; Vleck, P.; de Souza, A. and Denia, M. 2005. Biológico nitrogen fixation in secondary regrowth and mature rainforest of central Amazonia. *Agric. Ecosys. Environ.* 111:237-252.
- Instituto de Edafología. 1993. Métodos de análisis de suelos y plantas utilizados en el laboratorio general del instituto de edafología. UCV. Facultad de Agronomía, Maracay, Venezuela. 89 p.
- Jaramillo, S.; Silva, J. y Osorio, N. 2004. Potencial simbiótico y efectividad de hongos micorrizicos arbusculares de tres suelos sometidos a diferentes usos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 57:2203-2214.
- Landis, T. D. 2000. Manual de viveros para la producción de especies forestales en contenedor. *In*: Landis, T. D.; Tinus, R. W.; McDonald, S. E.; y Barnett, J. P. Manual Agrícola. Vol. Núm. 4. Washington, DC. U. S. Department of Agriculture, Forest Service. 1-67 pp.
- López, M.; Martínez-Viera, R.; Brossard, M.; Bolívar, A.; Alfonso, N.; Alba, A. y Abreo, H. 2008. Efecto de biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes Venezolanos. *Agron. Trop.* 58(4):391-401.
- Martínez-Viera, R.; López, M.; Brossard, M.; Tejada, G.; Pereira, H.; Parra, C.; Rodríguez, S. y Alba, A. 2006. Procedimientos para el estudio y fabricación de biofertilizantes bacterianos. Maracay. Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. (Serie B. Núm. 11) 88 p.
- Mantilla, C.; García, T.; Payola, L. and Oviedo, Z. 2009. Using a solid waste culture medium for growing a native strain having biofertiliser potential. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 12 (1):103-112.
- Mora, O. H.; Gómez, P. y Milla, P. 2003. Evaluación del proceso de conservación y manejo de la cuenca alta del Río Yaracuy, estado Yaracuy. II Análisis económico. *Bioagro* 15:165-171.
- Mora, E. and Toro, M. 2007. Estimulación del crecimiento vegetal por *Burkholderia cepacia*, una cepa nativa de suelos ácidos de sabanas venezolanas. *Agron. Trop.* 57(2)123-128.
- Peña-Venegas, C. P. 2004. Mantenimiento de la fertilidad del suelo y generación de tecnologías para la recuperación de áreas degradadas en la Amazonía colombiana. Informe final anual, Instituto Sinchi, Leticia, Colombia. 83 p.
- Peña, H. y Reyes, I. 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Interciencia*. 32(8):560- 565.

- Pla, I. 1983. Metodología para la caracterización física con fines de diagnósticos de problemas de manejo y conservación de suelos en condiciones tropicales. Alcance. Rev. Fac. Agron. UCV. Maracay. Alcance 32. 9 p.
- Rodríguez, N.; Florentino, A.; Torres, D.; Yendis, H. y Zamora, F. 2009. Selección de indicadores de calidad de suelo en tres tipos de uso de la tierra en la planicie de Coro estado falcón. Rev. Fac. Agron. Luz. 26(3):340-361.
- Romano, A.; Altamirano, F. E.; Arguello, J.; Tevés, A. y Cazón, L. 2003. Efectos de la inoculación con *Pseudomonas* fluorescentes 51B sobre la germinación y crecimiento de dos cultivares de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Cienc. Tecnol. 8 UNSE. In: Pérez Bradán, C.; Altamirano, F.; Tores, N. y Corvalán, E. 2005. Efecto de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fósforo en *Phaseolus vulgaris* bajo siembra directa. Informe de Investigación. INTA Estación experimental Salta. 5 p.
- Sivila, R. y Angulo, G. 2006. Efecto del descanso agrícola sobre la microbiota del suelo (Patarani-Altiplano Central Boliviano). Ecología en Bolivia 41(3):103-115.
- Torres, M. y Lizarazo, L. M. 2006. Evaluación de grupos funcionales (ciclo del C, N y P) y actividad de la fosfatasa ácida en dos suelos agrícolas del departamento de Boyacá (Colombia). Agron. Colomb. 24(2):317-325.
- Torres, D.; Florentino, A. y López, M. 2006. Indicadores e índices de calidad de suelo en un ultisol bajo diferentes prácticas de manejo conservacionista en Guárico, Venezuela. Bioagro. Volumen 18(2):83-91.
- Torres, D.; Aparicio, M.; López, M.; Contreras, J. y Acevedo, I. 2009. Impacto del tipo de uso de la tierra sobre propiedades del suelo en la depresión de Quíbor. Agron. Trop. 59 (2):207-217.