



1

## **AISLAMIENTO, SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DE BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO Y SOLUBILIZADORAS DE FOSFORO EN UN ARIDISOL TROPICAL**

### **ISOLATION, SELECTION AND EVALUATION OF NITROGEN FIXING AND PHOSPHORUS SOLUBILIZING BACTERIA IN A TROPICAL ARIDISOL**

### **ISOLAMENTO, SELEÇÃO E AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO E SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO EM UM ARIDISOL TROPICAL**

**Betzabeth Jimenez**<sup>1</sup>

bethzabeth.jimenez182@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0005-0994-0001>

**Nectalí Rodríguez**<sup>2</sup>

fzamora@inia.gov.ve

<https://orcid.org/0009-0007-5947-1877>

**Miklas Lopez**<sup>3</sup>

mklasl@yahoo.com

<https://orcid.org/0009-0003-7433-3334>

**Recibido:** 10/07/23

**Aceptado:** 10/08/23

**Publicado:** 05/09/23

**Correspondencia:** mklasl@yahoo.com

1. Ingeniera Agrónoma, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda Coro, Venezuela. Dpto. Desarrollo y Producción Agrícola.
2. Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda Coro, Venezuela. Dpto. Desarrollo y Producción Agrícola.
3. Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda Coro, Venezuela. Departamento de Ambiente y Tecnología Agrícola. Coro-Falcón.



2

## RESUMEN

Con la finalidad de producir Biofertilizantes, se tomaron muestras de suelo provenientes de tres tipos de uso de la tierra (TUT): como lo son TUT Pasto E (fertilización orgánica), TUT Bosque N (área sin intervenir), y TUT Melón (bajo manejo convencional), ubicados en la unidad de reciclaje de desechos orgánicos "Germán Lugo", Coro estado Falcón, a partir de los cuales se realizaron aislamientos para determinar la riqueza microbiana con poder biofertilizante y el efecto que estos ejercían sobre la cantidad y diversidad de bacterias encontradas; se efectuaron siembras en tres medios semi selectivos: YMA (para fijadoras de nitrógeno simbióticas FNS), PK (para solubilizadoras de fósforo SF) y Ashby (para fijadoras de nitrógeno de vida libre FNVL). A pesar de los bajos valores de materia orgánica, nitrógeno y fósforo obtenidos en los análisis de suelo, la cantidad y diversidad de colonias de bacterias FNVL y FNS fue buena, encontrándose estas en todos los TUT, caso contrario para las SF que se encontraron únicamente en el TUT Pasto E. Se eligieron seis tipos de cepas bacterianas fijadoras de nitrógeno y se inocularon en bandejas con plántulas de tomate para así determinar su poder estimulante; estas cepas se compararon con un biofertilizante comercial, donde se obtuvo como resultado que el tratamiento 4 (T4) (Pasto E 2) fue el que originó los mejores resultados aún por encima del biofertilizante comercial y diferenciándose significativamente del testigo (T7), los tratamientos T2, T3 y T6 también respondieron convenientemente, siendo de igual forma potenciales Biofertilizantes.

**Palabras claves:** Biofertilizantes, tipos de uso de la tierra (TUT), fijadoras de nitrógeno de vida libre (FNVL).

## ABSTRACT

With the aim of producing Biofertilizers, soil samples were taken from three types of land use (TUT): TUT Pasto E (organic fertilization), TUT Bosque N (unintervened area), and TUT Melón (under conventional management), located in the organic waste recycling unit "Germán Lugo" in Coro, Falcón state. From these samples, isolations were made to determine the microbial richness with biofertilizing power and the effect they had on the quantity and diversity of bacteria found. The isolations were carried out in three semi-selective media: YMA (for symbiotic nitrogen fixers FNS), PK (for phosphorus solubilizers SF), and Ashby (for free-living nitrogen fixers FNVL). Despite the low values of organic matter, nitrogen, and phosphorus obtained in the soil analysis, the quantity and diversity of FNVL and FNS bacterial colonies were good, found in all TUTs. In contrast, SF bacteria were found only in TUT Pasto E. Six types of nitrogen-fixing bacterial strains were selected and inoculated in trays with tomato seedlings to determine their stimulating power. These strains



were compared with a commercial biofertilizer, and the result showed that treatment 4 (T4) (Pasto E 2) produced the best results, even surpassing the commercial biofertilizer and significantly differing from the control (T7). Treatments T2, T3, and T6 also responded well and showed potential as biofertilizers.

**Keywords:** Biofertilizers, types of land use (TUT), free-living nitrogen fixers (FNVL).

### RESUMO

Com a finalidade de produzir Biofertilizantes, foram coletadas amostras de solo de três tipos de uso da terra (TUT): TUT Pasto E (fertilização orgânica), TUT Bosque N (área não intervencionada) e TUT Melón (sob manejo convencional), localizados na unidade de reciclagem de resíduos orgânicos "Germán Lugo", em Coro, estado Falcón. A partir dessas amostras, foram realizados isolamentos para determinar a riqueza microbiana com poder biofertilizante e o efeito que eles exerciam na quantidade e diversidade de bactérias encontradas. Foram feitos cultivos em três meios semi-seletivos: YMA (para fixadoras de nitrogênio simbióticas FNS), PK (para solubilizadoras de fósforo SF) e Ashby (para fixadoras de nitrogênio de vida livre FNVL). Apesar dos baixos valores de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo obtidos nas análises do solo, a quantidade e diversidade de colônias de bactérias FNVL e FNS foram boas, encontradas em todos os TUTs, ao contrário das SF que foram encontradas apenas no TUT Pasto E. Seis tipos de cepas bacterianas fixadoras de nitrogênio foram selecionadas e inoculadas em bandejas com plântulas de tomate para determinar seu poder estimulante. Essas cepas foram comparadas com um biofertilizante comercial, e o resultado mostrou que o tratamento 4 (T4) (Pasto E 2) foi o que apresentou os melhores resultados, superando até mesmo o biofertilizante comercial e diferenciando-se significativamente do controle (T7). Os tratamentos T2, T3 e T6 também responderam de forma satisfatória, sendo igualmente potenciais biofertilizantes.

**Palavras-chave:** Biofertilizantes, tipos de uso da terra (TUT), fixadoras de nitrogênio de vida livre (FNVL).

### 1. INTRODUCCIÓN

La aplicación sin control de productos químicos en los cultivos agrícolas causa graves daños tanto a la salud como al medio ambiente ya que son altamente contaminantes para el suelo, el agua, los alimentos, la atmósfera, los animales y el hombre, además que su fabricación necesita de grandes cantidades de fuentes de energía no renovables. Por otra parte, los elevados precios de estos productos impiden que puedan ser adquiridos por la mayoría de los productores de los países en vías de desarrollo (Jaua, 2008).



A raíz de esto, la mayoría de los círculos agrícolas científicos han llegado a la percepción general que la agricultura moderna enfrenta una crisis ambiental. La raíz de esta crisis radica en el uso de prácticas agrícolas intensivas basadas en el uso de altos insumos que conllevan a la degradación de los recursos naturales y por ende, reducciones progresivas de la productividad (Altieri, 1994).

En consecuencia, y dada la necesidad de aumentar la respuesta de la agricultura para la alimentación humana disminuyendo el uso de agroquímicos, las investigaciones se han orientado hacia el desarrollo de nuevas biotecnologías. En los últimos años ha habido un interés creciente en los microorganismos benéficos del suelo, ya que pueden promover el crecimiento de las plantas y en algunos casos también evitar la infección por parte de algunas enfermedades (Peña y Reyes, 2007).

Los biofertilizantes pueden definirse como productos a base de microorganismos que viven normalmente en el suelo, aunque en poblaciones bajas y que al incrementar sus poblaciones por medio de la inoculación artificial son capaces de poner a disposición de las plantas mediante su actividad biológica una parte importante de los nutrientes que éstas necesitan para su desarrollo, así como sustancias hormonales o promotoras del crecimiento vegetal. (Martínez, 2004). Por otra parte en la búsqueda de estrategias enmarcadas en el manejo sostenible de los recursos y mediante la utilización de productos orgánicos que promuevan los procesos biológicos, y que además sean accesibles, en este trabajo se ensayará el aislamiento y selección de cepas nativas de bacterias fijadoras de nitrógeno provenientes de suelos bajo tres tipos de uso, ubicados en la Unidad de Reciclaje de Desechos Orgánicos de la Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda” (UREDO) para la producción de biofertilizantes y su posterior aplicación en plántulas de tomate.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

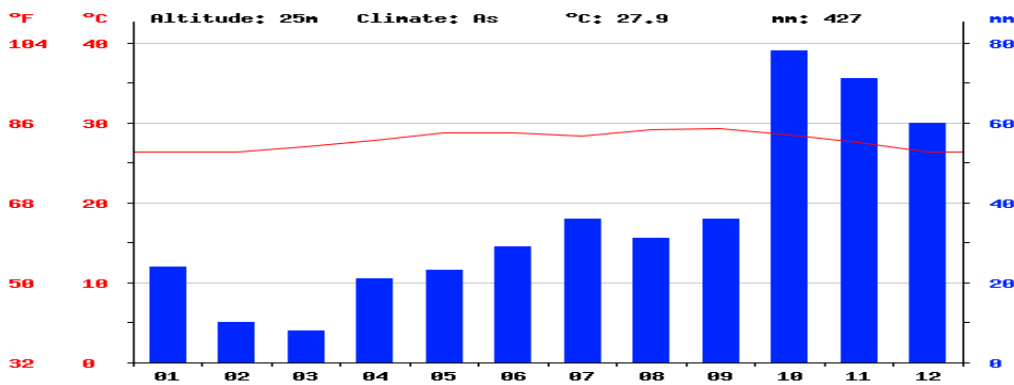
### Zona de estudio

El estudio fue llevado con suelos provenientes de la serie “El Patillal”, sector “El Cebollal” en la planicie de Coro, Municipio Miranda, estado (Figura 1).



**Figura 1.** Ubicación del sitio de estudio.

La zona corresponde al tipo de vida bosque seco tropical según Holdridge, la misma presenta una precipitación media anual de 450 mm, una evaporación de 3200 mm de promedio anual, temperatura de 27,7 ° C y humedad relativas de 74 % y una velocidad del viento de 17,4 Km/hora en promedio.



**Figura 2.** Datos promedios de precipitación y clima de la zona bajo estudio. (fuente: fuerza aérea venezolana)

Los suelos se caracterizan por presentar texturas medias y por un desarrollo estructural calificado de débil a moderado. El drenaje interno y externo es de moderado a rápido; permeabilidad moderada a muy alta y pH neutro a moderadamente alcalino, fertilidad baja y en general presentan problemas de erosión y de salinidad moderada. Los suelos fueron clasificados como Typic Haplargids, franco fino, mixto, isohipertérmico (González y Strebins, 1971).



## Selección de sitios de muestreo

Se seleccionaron 3 lotes, los cuales se mencionan y se describen a continuación:

*Bosque Natural:* Ubicada en las coordenadas 429 883 este y 1 260 983 norte. Representa un área no intervenida, bajo vegetación natural, donde se presume que las propiedades del suelo poseen los valores característicos de la serie evaluada y servirá como área de referencia para la construcción de un gradiente ambiental.

*Pasto Elefante:* *Pennisetum purpureum* (bajo manejo orgánico), ubicada en las coordenadas 429 861 este y 1 260 920 norte. Representa un sistema de producción donde se ha incorporado el uso de abonos orgánicos bajo un periodo de cuatro años.

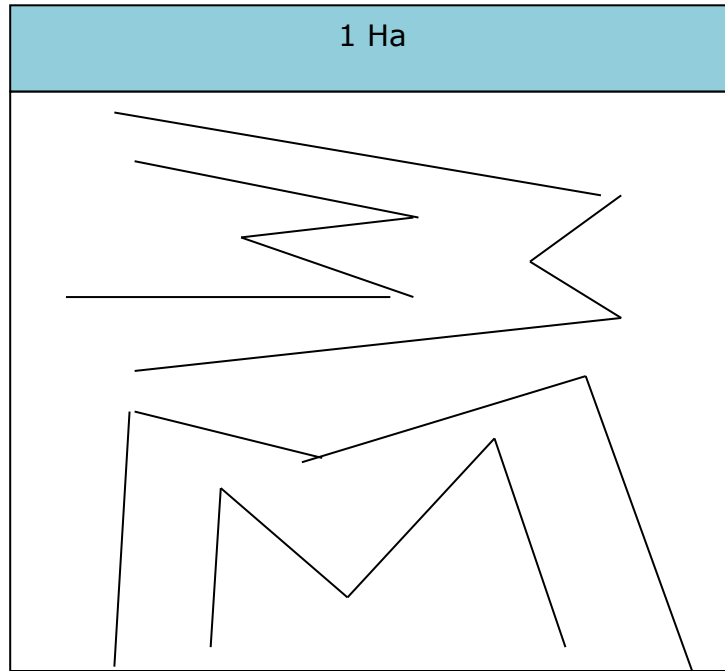
*Melón:* *Cucumis melo* (bajo manejo de una agricultura convencional), ubicada en las coordenadas 429 827 este y 1 260 890 norte. Representa el sistema de manejo convencional de siembra de hortalizas, el cual se presume que ha sido un factor de deterioro del suelo.

## Recolección de Muestras

Las muestras se tomaron en los suelos bajo diferentes tipos de uso de la tierra (TUT) como son: TUT1 (Bosque natural), TUT2 (Pasto elefante), TUT3 (Melón), de la forma que se muestra en las figuras 2 y 3: Se homogeneizaron los lotes (1 ha por lote), a fin de no obtener valores que se vean afectados (positiva o negativamente) por la cantidad de suelo muestreado en cada tipo de uso de la tierra 1) Tomar las muestras en doble M, cerca de la rizósfera de las plantas. Un total de 20 submuestras por ha, a una profundidad de 0-15 cm. Dos doble M por ha. Geo referenciar cada punto. (renaud, 2007)

## Aislamiento de las bacterias

*Secado y cernido de las muestras:* Las muestras recolectadas se cernieron con un tamiz de 2 mm se mezclaron y homogeneizaron, según su lote, para obtener muestras compuestas de cada tipo de uso de la tierra y se dejaron secar al aire y a la sombra (para retirar el exceso de humedad), se empacaron 500 g en bolsas plásticas y se refrigeraron hasta el momento de ser usadas, del resto de suelo se tomaron 50 g por cada tipo de uso y se pasó por un tamiz de 0,80 mm, las cuales se llevaron posteriormente al laboratorio de suelo ubicado en el Complejo Académico "Ing. Agr. José R. Bastidas", para realizar la caracterización química y física. Se determinó: distribución de tamaño de partículas, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, conductividad eléctrica y pH.



**Figura 3.** Lote de homogenización.

*Diluciones seriadas y aislamiento en medios semi selectivos:* De cada muestra compuesta se tomaron 10 gr de suelo, los cuales se agregaron en una fiola que contenía 100 ml de agua destilada estéril, se agitó en la plancha de oscilación durante 20 minutos para obtener una dilución de suelo homogénea. De esta dilución, se tomó 1 ml y se agregó en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada estéril para obtener una dilución  $10^{-1}$ , se agitó durante unos segundos para homogeneizar y así sucesivamente hasta llegar a la dilución  $10^{-6}$ . De las diluciones  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  se tomó 1 gota y se procedió a sembrar en placas Petri con el medio Ashby (para bacterias de vida libre) con 4 repeticiones por dilución, luego de la dilución  $10^{-6}$  se procedió a realizar la siembra en el medio Yellow Medium Agar (YMA para bacterias simbióticas) con 3 repeticiones y 1 repetición en PIKOVSKAYA (PK, para solubilizadoras de fósforo), y esparciéndolo de manera uniforme con el uso del rastrillo.

*Caracterización y conteo de las colonias:* Luego de cinco días de incubación a temperatura ambiente, se realizó la caracterización de las bacterias tomando en cuenta para esto las características culturales como: color, brillo, forma, bordes y elevación. Seguidamente procedimos a contar según los parámetros establecidos.



*Preparación del pre inóculo para la elaboración del bioproducto:* Luego de tres días, al observar crecimiento procedimos a realizar la preparación del medio líquido (caldo nutritivo). Este se inoculó tomando 10 ml del medio estéril y colocándolo en la placa donde se encontraba la bacteria, removiéndola con el uso del rastrillo y se trasladó al resto del medio de cultivo. Esto se repitió para cada tipo de bacteria. Seguidamente se ubicaron las fiolas en el agitador rotatorio a 100 rpm por 72 horas.

*Medición de la Transmitancia y la Absorbancia:* Para medir la concentración del bioproducto, se tomó una muestra del caldo nutritivo sin inoculare inoculado para así hacer comparaciones antes y después con cada tipo de bacteria.

*Conteo de bacterias viables y porcentaje de contaminación:* Se realizó partiendo del producto líquido terminado, por el método de las diluciones y siembra en placas utilizando el medio agar nutriente como medio de cultivo, de igual forma que en las del aislamiento de suelo. A los 3 días se realizó el conteo de Unidades Formadoras de Colonia (UFC/ml) y se determinó la cantidad de éstas en el producto, mediante la siguiente relación. Para determinar el porcentaje de contaminación se observaron las placas a fin de comprobar que las mismas poseían las características iniciales antes de la elaboración del bioproducto y que no había crecimiento de otro tipo de bacteria diferente a la que se sembró.

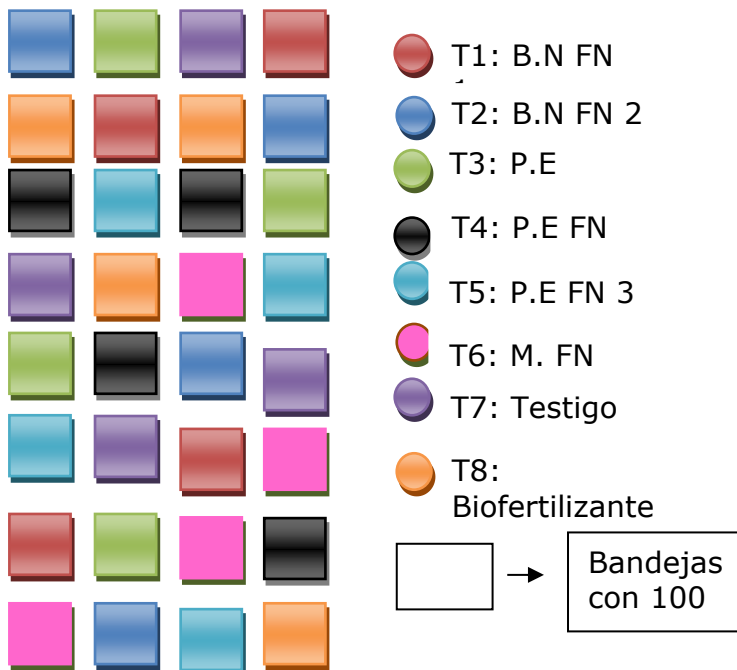
Esta prueba de inoculación se realizó en bandeja y a nivel de invernadero bajo un diseño completamente al azar con 8 tratamientos, y 4 repeticiones, con el objeto de determinar la actividad estimuladora del crecimiento vegetal de una cepa determinada. Cada unidad experimental estuvo representada por una bandeja con 100 semillas, el ensayo constó de un total de 32 unidades experimentales.

Se procedió de la siguiente manera: se colocaron 700 g de suelo estéril (sustrato), en bandejas de 30 a 50 centímetros de largo y de 20 a 30 centímetros de ancho, se colocaron 100 semillas de tomate, en cada bandeja; sobre este suelo, se asperjaron 50 ml del bioproducto líquido fermentado con la bacteria que se iba a poner a prueba y luego se aplicó riego inmediatamente (regándose diariamente sin saturar el suelo).



## Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar, con 8 tratamientos y 4 repeticiones. Los tratamientos evaluados fueron: 1: B.N FN 1 (Bosque natural, fijadora de nitrógeno B.N FN 2 (Bosque natural, fijadora de nitrógeno 2) P.E FN 1 (Pasto elefante; fijadora de nitrógeno 1) 4: P.E FN 2 (Pasto elefante; fijadora de nitrógeno 2) 5: P.E FN 3 (Pasto elefante; fijadora de nitrógeno 3) 6: M. FN 1 (Melón, fijadora de nitrógeno 1) 7: Testigo 8: Biofertilizante Comercial cada repetición consistió de una bandeja con 100 semillas, lo que corresponde a un total de 32 unidades experimentales en las cuales se analizaron 25 plántulas para un total de 100 plantas por tratamiento. (Ver figura 4)



**Figura 4.** Diseño experimental de las pruebas de bioestimulación.  
**Variables evaluadas**

**Número de plántulas emergidas:** entre los días 4to y 7mo, se determinó y cuantificó el número de plantas emergidas en todas las bandejas.



*Número de plantas con la primera hoja verdadera:* A partir del 7<sup>mo</sup> día, se determinó el número de plantas con la primera hoja verdadera en todas las bandejas. A los 22 días de cultivadas las plantas se seleccionaron al azar 25 por bandeja, y se tomó en cuenta el efecto de borde (las plántulas ubicadas en los bordes no se seleccionaron, ya que, son más afectadas por los factores externos como: viento, roce, entre otros.) a la hora de la selección, y a las cuales se les realizaron las siguientes mediciones:

*Longitud de la planta:* Se midió con un escalímetro desde la base del tallo hasta el punto de inserción en el tallo de la última hoja verdadera. El resultado se expresó en cm.

*Peso seco de la parte aérea y de las raíces de las plantas:* Una vez cosechadas las plántulas, se colocaron en una bolsa de papel y se llevaron a una estufa a 50 °C hasta que alcanzaron el peso constante (más o menos 48 horas), luego se pesaron en una balanza analítica. El resultado se expresó en g.

*Longitud radicular:* Esta medición se realizó en la raíz principal desde la base hasta el ápice. El resultado se expresó en cm.

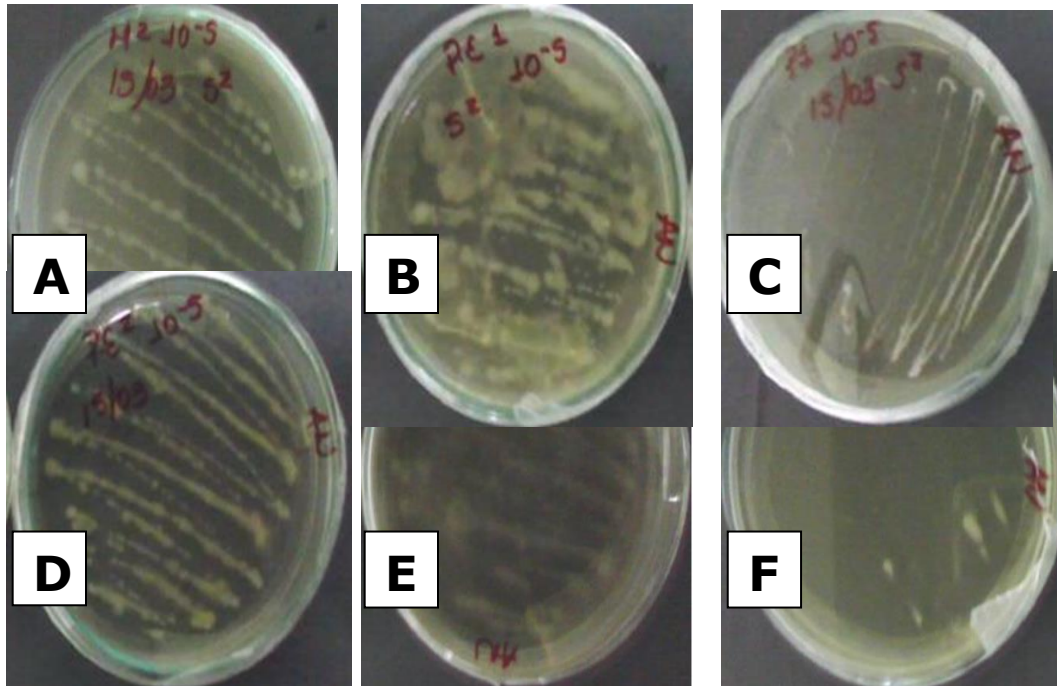
*Relación Tipos de Uso y la diversidad microbiológica de las cepas:* De acuerdo a los valores obtenidos en los análisis de suelo se realizaron comparaciones sobre el número de colonias formadas y seleccionadas en los diferentes TUT y sus propiedades químicas y físicas.

### **Análisis estadístico**

Los análisis se realizaron con el uso del programa estadístico INFOSTAT. Se realizó un análisis de varianza a los valores obtenidos en cada variable para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, y aquellos que resultaron estadísticamente significativos, se les aplicó la prueba de Tukey al 0,05%.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Selección de colonias en Ashby y siembra :** Luego de estudiar las colonias, se procedió a seleccionarlas que presentaron mayor desarrollo y repetición, se sembraron en los medios Agar Nutriente (AN) y Ashby, luego se escogieron las bacterias que poseían las características que corresponden a las fijadoras de nitrógeno de vida libre (FNVL) (Ver cuadro N° 1), según la metodología (Jiménez, 2007) y se sembraron en estriado en placas hasta obtener cepas puras (Ver figura 5).



**Figura 5.** Selección de cepas puras en AN. A) M. FN 1, B) P.E FN 1, C) P.E FN 2, D) P.E FN 3, E) B.N FN 1, F) B.N FN 2

**Características morfológicas de las cepas seleccionadas**

Se seleccionaron 7 colonias en los diferentes usos evaluados, las colonias fueron seleccionadas en bases a su velocidad de crecimiento y morfología. En la tabla 1, se describen las características de las colonias seleccionadas.

**Tabla 1.** Características morfológicas y cantidad de las cepas FNVL seleccionadas.

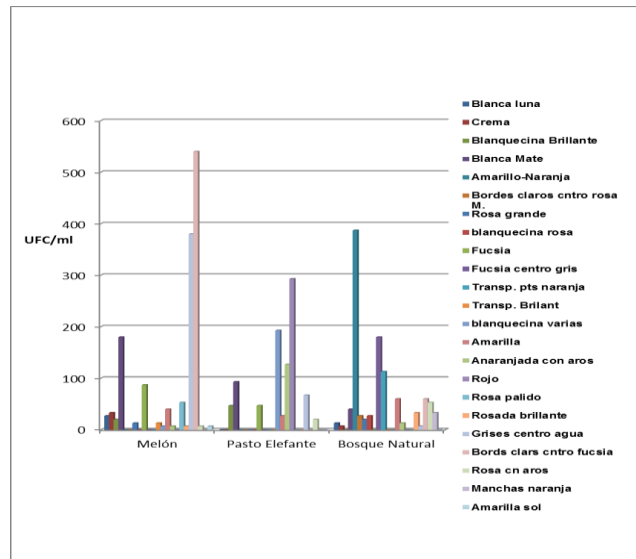
Tipos de Uso	Nº de colonias	Morfología de la colonia	Cepa Bacteriana seleccionada	Crecimiento
Melón	1	Blanquecina, brillante, redonda, plano convexa	✓	Rápido



<b>Pasto Elefante 1</b>	1	Blanquecina, brillante, redonda, plano convexa	✓	Rápido
<b>Pasto Elefante 2</b>	2	Blanca mate, opaca, redonda, plana.	✓	Lento
<b>Pasto Elefante 3</b>	1	Transparente, brillante, lobulada, plano convexa, redonda	✓	Rápido
<b>Bosque Natural 1</b>	1	Transparente, brillante, redonda, convexa	✓	Rápido
<b>Bosque Natural 2</b>	1	Blanquecina, brillante, redonda, convexa	✓	Lento

### **Determinación de la riqueza microbiana con potencial biofertilizante en tres suelos con diferentes tipos de uso.**

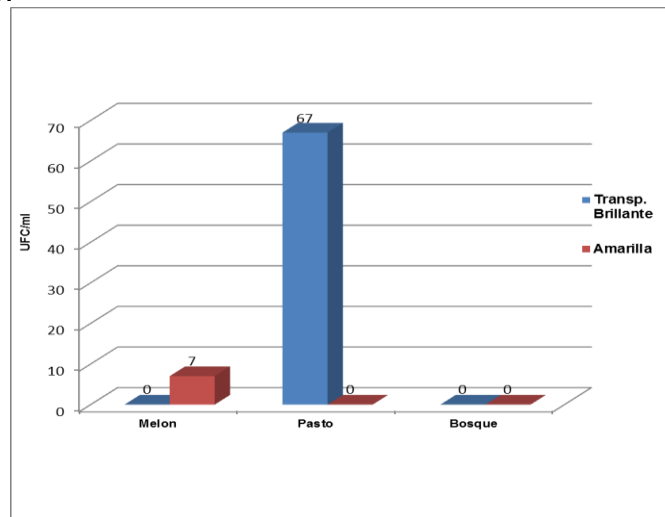
Para determinar la riqueza microbiana presente en los diferentes TUT se realizaron siembras en diferentes medios semi selectivos: YMA, PK y Ashby. En la figura 6 se observan las diferentes bacterias encontradas en el medio YMA, por cada TUT obteniéndose un total de 23 tipos de bacterias, el mayor número de colonia fue encontrado en el TUT Melón, seguido por el Bosque Natural y el Pasto Elefante, sin embargo, las aisladas del TUT Pasto E. tuvieron un desarrollo más acelerado (desarrollo en menos días) en comparación con los otros dos.



**Figura 6.** Bacterias encontradas en el medio YMA.

En el medio Ashby el mayor número de bacterias fueron encontradas en el Bosque N, seguida del Melón y el Pasto E, respectivamente.

Con respecto a las bacterias solubilizadoras de fósforo, las cuales se desarrollaron en medio PK, sólo se encontraron en los TUT Melón y Pasto E tal como se observa en la figura 7, siendo este último uso, el que presenta la mayor cantidad de bacterias solubilizadoras de fosforo, lo cual sugiere que las bacterias de este tipo prefieren los suelos bajo manejo orgánico.



**Figura 7.** Cantidad y tipos de UFC por TUT



### Evaluación de cepas seleccionadas

Para evaluar el potencial fertilizante de las cepas seleccionadas, se realizaron pruebas de bioestimulación, para determinar, el efecto de la inoculación de estas cepas sobre el desarrollo del cultivo de pimentón.

A partir del quinto día se observaron las primeras plántulas en el T4, siendo este el tratamiento que obtuvo mayor número de plántulas emergidas en menor tiempo en comparación a resto de los tratamientos. Las primeras hojas verdaderas se visualizaron a partir del 10º día, encontrándose únicamente en los tratamientos T4 y T8 en igual cantidad, por lo que no hubo diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos. Con respecto a la longitud de las plantas del T4 obtuvieron una mayor altura en comparación con los demás tratamientos, seguidas del T8, los tratamientos T6 y T3 obtuvieron resultados similares, siguiendo luego el T2, T5, T1 y por último el testigo (T7). Estos resultados indican que la concentración más adecuada de un inóculo es la de  $1 \times 10^{10}$  UFC/ml, lo cual coincide con lo reportado por Martínez *et al.*, (2006).

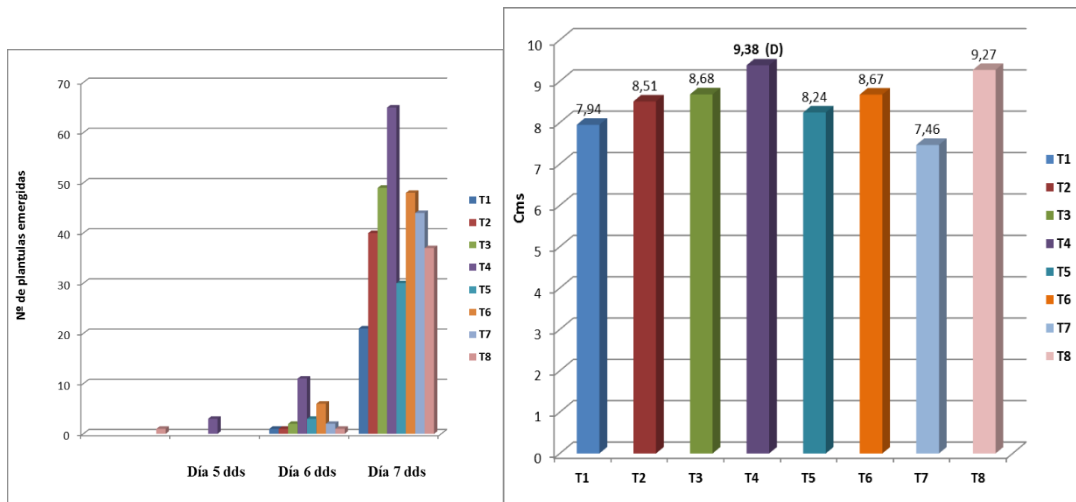
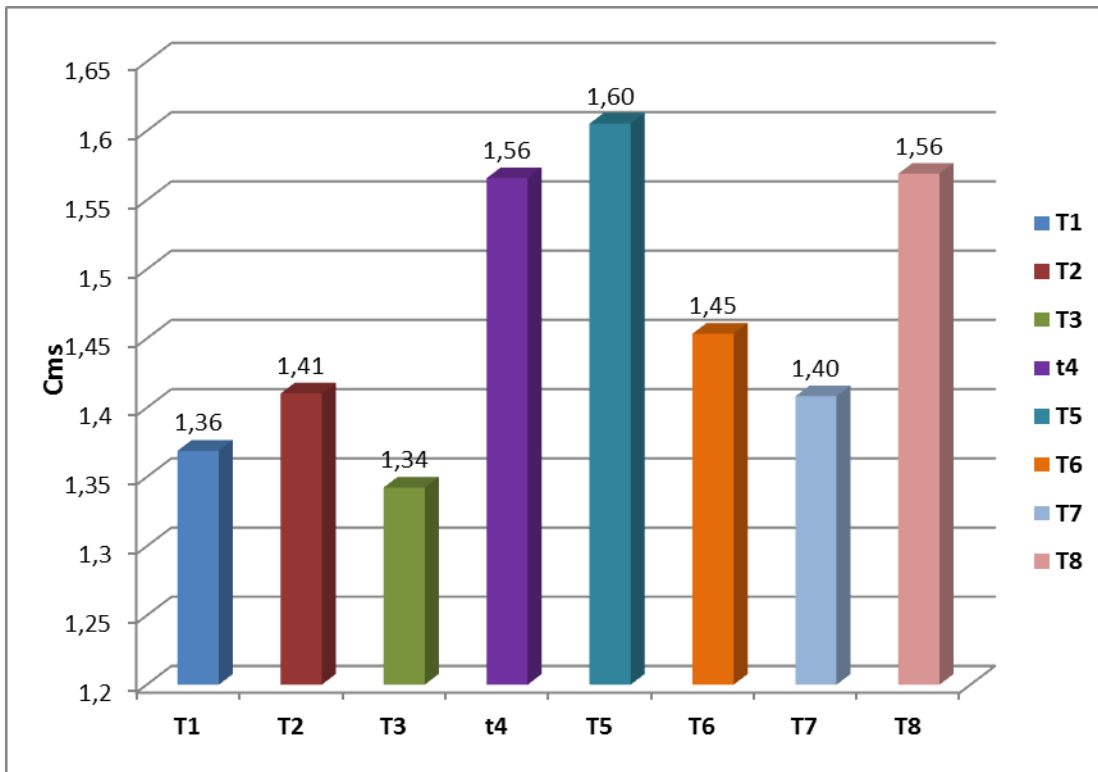


Figura 8. Evaluación de cepas seleccionadas.

En la figura 8 se observa que el tratamiento T5 fue el que alcanzó una mayor longitud radicular, seguido del T4 y T8, que respondieron nuevamente de forma similar, seguido del T6. El T2 se diferencia ligeramente del T7, y por último los tratamientos T1 y T3 que, aunque en las variables anteriores se habían comportado con buenos resultados para esta variable obtuvieron valores bajos, lo cual concuerda con lo dicho por Mantilla (2007), quien indica que concentraciones mayores a  $1 \times 10^{10}$  UFC/ml pueden inhibir el desarrollo radicular. 5.



**Figura 9.** Longitud radicular por tratamientos.

**Peso seco de las raíces y de la parte aérea de las plantas:**

En la figura 9, se observa que el tratamiento T7 fue el que obtuvo mejores resultados, seguido de los tratamientos T4 y T8, respectivamente.

**Relación entre el número de colonias de bacterias fijadoras de Nitrógeno y algunas propiedades físicas y químicas de los suelos evaluados.**

Como resultado de la investigación se observan las características químicas y físicas de los diferentes TUT evaluados, obteniéndose que para los tres TUT los valores de materia orgánica y nitrógeno (MO y N) sean bajos en todos los casos, el pH es ligeramente alcalino y la CE (dS/m) indica suelos no salinos. Lo que corresponde a fósforo (P) los TUT Pasto E y Melón presentan valores bajos en comparación con el TUT Bosque N, en el cual el valor fue alto. En relación con el potasio (K) se observan valores medios para el TUT Pasto E, y alto para los TUT Bosque N y Melón.



A pesar de que la disponibilidad de nutrientes no fuera idónea para el desarrollo de las FNVL (Martínez *et al.*, 2006), esto no fue una limitante para su desarrollo, pudiendo estar relacionado con que estas poseían valores de pH y temperatura óptimos según lo reportado por Parra (2000). De igual forma ocurrió con las bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas, hallándose en todos los TUT. Aunque Torres, (2009) y Cassú (2010) reportan que las FNVL fueron más afectadas por las condiciones adversas que presentaban los TUT que las SF, estos resultados fueron contradictorios a los reportados en la presente investigación donde las bacterias SF sólo se observaron en el TUT Pasto E y en bajas poblaciones por lo que se atribuyen estos resultados al manejo orgánico que ha recibido por un período mayor a 4 años, lo cual pudo haber beneficiado su establecimiento y desarrollo.

#### 4. CONCLUSIONES

Se produjeron seis biofertilizantes a partir de cepas provenientes de bacterias fijadoras de nitrógeno presentes en tres suelos con diferentes tipos de uso. El criterio que se tuvo en cuenta a la hora de la selección de las bacterias para la elaboración del biofertilizante, fueron las características morfológicas que estas presentaban y que correspondían con las de *Azotobacter* spp. La forma de presentación es líquida y poseía concentraciones de  $10^{10}$  y  $10^{11}$  UFC/ml.

A pesar de los diferentes TUT, las colonias de bacterias FNVL, simbióticas y SF, esto no influyó de forma significativa para los resultados en lo que ha desarrollo y establecimiento de las mismas se refiere, ya que se encontraron en los tres TUT por lo que consideramos que estos suelos presentan óptima riqueza microbiana.

El T4 correspondía a una bacteria del TUT Pasto E, y fue la que originó los mejores resultados, en la mayoría de las variables medidas en lo que respecta a la prueba de bioestimulación cómo lo fueron: número de emergencia de plántulas y longitud de la planta, diferenciándose significativamente del T7 (Testigo); y para las variables número de plantas con la primera hoja verdadera y peso seco de las hojas; obtuvo resultados similares al T8 (Biofertilizante comercial).

De las seis (06) bacterias seleccionadas, las de tipo de crecimiento lento y poco desarrollo resultaron entre las cinco (05) mejores para estimular el crecimiento y desarrollo de las plántulas evaluadas.



Para las bacterias de los tratamientos: T3 (Pasto E), T6 (Melón) y T2 (Bosque N) los resultados también fueron alentadores ya que se ubicaron siempre en los primeros 5 lugares de todos los resultados demostrando que también poseen potencial para ser utilizadas en la elaboración de Biofertilizantes.

Los Biofertilizantes producidos a partir de las bacterias seleccionadas, mostraron mejor comportamiento que el biofertilizante comercial en lo que respecta a las pruebas de bioestimulación.

A pesar de los valores bajos de MO en los suelos, el desarrollo de las bacterias tanto de vida libre como simbióticas fue buena, encontrándose en todos los TUT y con gran diversidad, no siendo así para las SF que se encontraron únicamente en el TUT Pasto E y en bajas poblaciones.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bautista-Cruz, A., & Martínez-Gallegos, V. (2020). Promoción del crecimiento de *Agave potatorum* Zucc. por bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre. *Terra latinoamericana*, 38(3), 555-567.
- Chávez-Díaz, I. F., Zelaya Molina, L. X., Cruz Cárdenas, C. I., Rojas Anaya, E., Ruíz Ramírez, S., & Santos Villalobos, S. D. L. (2020). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1423-1436.
- Corrales-Lozada, M., Lumbres, V., Iglesias-Osores, S., & Carreño-Farfán, C. (2020). Potencialidades de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, aisladas de *Portulaca oleracea* L. en suelos con salinidad. *Pastos y Forrajes*, 43(2), 93-101.
- Cuadras-Berrelleza, A. A., Peinado-Guevara, V. M., Peinado-Guevara, H. J., López-López, J. D. J., & Herrera-Barrientos, J. (2021). Agricultura intensiva y calidad de suelos: retos para el desarrollo sustentable en Sinaloa. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(8), 1401-1414.
- Dávila Medina, M. D., Gallegos Morales, G., Hernández Castillo, F. D., Ochoa Fuente, Y. M., & Flores Olivas, A. (2013). Actinomicetos antagonistas contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(8), 1187-1196.



- Garzón Marín, I., Cruz, E. C., Infante, A., & Cuervo, J. L. (2022). Efecto del compost de residuos de flores sobre algunas propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. *Acta Agronómica*, 71(2), 111-118.
- González, P. y Strabins, W. 1971. Estudio Agrológico. Coro-Quebrada Cardón. Fudeco, Barquisimeto-Venezuela. 91 pp.
- Guzmán, A., Obando, M., Rivera, D., & Bonilla, R. (2012). Selección y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) asociadas al cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum*). *Revista colombiana de Biotecnología*, 14(1), 182-190.
- López, M; R. Martínez; M. Brossard; A. Bolivar; N. Alfonso; A. Alba y H. Pereira. 2008. Efecto de biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes venezolanos. *Agronomía Trop.* 58(4): 391-401 pp.
- Mello, M. (2019). Tendencias del mercado mundial de fertilizantes. *Palmas*, 40(Especial T), 255-256.
- Padron, L., Torres Rodriguez, D. G., Contreras Olmos, J., López, M., & Colmenares, C. (2012). Aislamientos de cepas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fósforo en un suelo alfisol venezolano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(2), 285-297.
- Pilatuña Quishpe, M. F., González-Parra, M. M., Mero García, M. E., & Risco Arias, D. (2021). Evaluación agronómica de bacterias fijadoras de nitrógeno aisladas de suelos andinos en plántulas de lechuga y tomate. *Investigación Agraria*, 23(1), 47-52.
- Restrepo, K. T. C., Posada, E. A. E., Franco, L. A. R., & Hernández, J. F. R. (2021). Efecto de diferentes tipos de fertilizantes en el crecimiento del maíz criollo, Capachi morado, en el municipio de Andes, Antioquia. *Temas Agrarios*, 26(2), 140-151.
- Serrano, M., Pérez, L., Estrada-López, H., Mancera, R., & Aranguren, Y. (2022). Identificación y caracterización de rizobacterias nativas fijadoras de nitrógeno de *Capsicum* sp. de la región caribe colombiana. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 81-92.
- Viera-Arroyo, W. F. (2020). Rol de los microorganismos benéficos en la Agricultura Sustentable. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 67-68.