

1-1-2018

Caracterización de bacterias con potencial para la promoción del crecimiento vegetal en *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris*, hasta estado de plántula

Angie Nataly Castelblanco Florido

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia>

Citación recomendada

Castelblanco Florido, A. N. (2018). Caracterización de bacterias con potencial para la promoción del crecimiento vegetal en *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris*, hasta estado de plántula. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/24>

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Departamento de Ciencias Básicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Biología by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.



Caracterización de bacterias con potencial para la promoción del crecimiento vegetal en *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris*, hasta estado de plántula.

Angie Nataly Castelblanco Florido

Código 20112003

Tutora

Lucia Cristina Lozano Ardila

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA**

Agradecimientos

Con cada paso en la elaboración de este proyecto de investigación tuve la oportunidad de incursionar en distintas áreas de mi carrera aplicar conocimientos en biología, los cuales, me ayudaron a sacar adelante este trabajo.

Agradezco al acompañamiento, seguimiento y dirección de la docente Lucia Cristina Lozano Ardila, quien con su apoyo y complicidad permitieron que este proceso se desarrollara en cada aspecto. A la vez doy infinitas gracias a la Universidad de la Salle y al personal de los laboratorios y docentes por el préstamo de laboratorio y equipos para la ejecución de este proyecto de investigación.

Dedico esta trabajo a mi Tío Bladimir Castelblanco Ingeniero Forestal, quien me brindo todo su confianza y apoyo al permitirme realizar este trabajo con su empresa Ecoambithoz Ltda., y la finca La Loma, en la Vereda Santa Lucia, municipio de Guasca Cundinamarca, la cual financió el proyecto titulado Caracterización de bacterias con potencial para la promoción del crecimiento vegetal en *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris* hasta estado de plántula.

Finalmente agradezco a mi madre Blanca Florido por creer en mí y estar siempre a mi lado, a mi padre Omar Castelblanco por su apoyo y cariño.

**Caracterización de bacterias con potencial para la promoción del crecimiento vegetal en
Lactuca sativa y *Beta vulgaris* hasta estado de plántula**

**Bacteria Characterization with potential for the promotion of plant growth in *Lactuca
savita* and *Beta vulgaris* up to seedling status**

Resumen

La actividad agrícola con el uso constante de fertilizantes químicos ha traído problemas de contaminación, efectos en la salud humana, deterioro de suelos y pérdida de la biota microbiana que se encuentran allí; el uso de bacterias con potencial del crecimiento vegetal representa una alternativa para sustituir dichos fertilizantes químicos y ayudar tanto en el crecimiento vegetal, como al medio ambiente. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar bacterias aisladas en la finca La Loma, Vereda Santa Lucia, en el municipio de Guasca Cundinamarca, respecto a su potencial como promotoras del crecimiento para las hortalizas *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris*, se obtuvieron 38 colonias de cepas bacterianas de las cuales se seleccionaron 4 por su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico y solubilizar los fosfatos; posteriormente se inocularon estas 4 cepas en las semillas de *Lactuca sativa* (lechuga) y *Beta vulgaris* (acelga) se evaluó su desarrollo en condiciones de invernadero, obteniendo como resultado que las bacterias aisladas y caracterizadas promovieron el crecimiento vegetal de estas dos hortalizas en cuanto a los patrones de medida tomados: longitud de la raíz, número de hojas, longitud de hojas, peso seco y peso fresco; en comparación del tratamiento utilizando el fertilizante químico 10-30 y el control negativo. Concluyendo así que las cepas seleccionadas (A1, A3, A5 y A6) tuvieron durante el proceso de inoculación de las semillas de acelga y lechuga un aporte positivo en su crecimiento hasta el estado de plántula y que estas cepas son candidatas para próximos estudios

que se evalúen en campo para determinar su potencial como biofertilizantes ayudando así a dejar atrás el uso de fertilizantes químicos.

Palabras claves: Bacterias promotoras de crecimiento vegetal, *Lactuca sativa*, *Beta vulgaris*

Abstract

The agricultural activity with its constant use of chemical fertilizers has brought contamination problems, effects on human health, soil deterioration and loss of the microbial biota found there; the use of bacteria with plant growth potential represents an alternative to replace these chemical fertilizers and help both plant growth and the environment. The objective of this work was to characterize isolated bacteria in La Loma farm, Vereda Santa Lucia, in Guasca municipality of Cundinamarca, regarding its potential as growth promoters for the vegetables *Lactuca sativa* and *Beta vulgaris*, 38 colonies of bacteria strains were obtained of which 4 were selected for their ability to fix atmospheric nitrogen and solubilize phosphates; later these 4 strains were inoculated in the seeds of *Lactuca sativa* (lettuce) and *Beta vulgaris* (Swiss chard) their development was evaluated in greenhouse conditions, obtaining as a result that the isolated and characterized bacteria promoted the vegetable growth of these two vegetables in terms of the proposed measurement patterns: root length, number of leaves, leaf length, dry weight and fresh weight compared to the treatment used with the chemical fertilizer 10-30 and negative control, concluding that the selected strains (A1, A3, A5 and A6) had during the process of inoculation of the seeds of chard and lettuce a positive contribution in their growth up to the state of seedling and that these strains are candidates for future studies that are evaluated in the field to determine their potential as biofertilizers, thus helping to leave behind the use of chemical fertilizers.

Keywords

Plant growth promoting bacteria, *Lactuca sativa*, *Beta vulgaris*.

Introducción

Los agricultores para agilizar la producción de los cultivos y realizar la venta de productos agrarios han utilizado productos de origen químico, los cuales les han ayudado a garantizar el crecimiento, el desarrollo vegetal y mejorar la productividad de los cultivos, especialmente en los suelos deteriorados o que han perdido la riqueza biológica (Portnov S, 2004). En los países de clima tropical, es común el uso de fertilizantes químicos en las áreas agrícolas; de los cuales un 50% de estos fertilizantes compuestos por macro nutrientes de nitrógeno (N) fsforo (P) y potasio (K) son tomados por la planta, mientras que el restante queda en el suelo y son lixiviados a cuerpos de agua, causando pérdidas económicas y contaminación ambiental (Saikia & Vanita, 2007).

El uso de fertilizantes químicos y otros agroquímicos, con el tiempo han impactado el medio ambiente, no solo en el municipio de Guasca Cundinamarca, también en la mayor parte del mundo, estos ejercen efectos nocivos en aguas superficiales y subterráneas, en el suelo y el subsuelo, en la flora, en la fauna y especialmente en los microorganismos que presentan asociaciones con las plantas. En las plantas ocasionan que reduzcan su crecimiento, pierdan la coloración natural en sus hojas y sus flores, reduzcan la proliferación de frutos, lo cual provoca

que la producción de cultivo pierda su atractivo a la hora de la venta (Freyre, 1997), y en cuanto a la biota microbiana que se encuentra en el suelo, el uso de los fertilizantes químicos producen un cambio en los ecosistemas modificando sus poblaciones, las cuales pueden presentar una asociación con la planta ayudándole en su crecimiento y desarrollo (Echegaray A, 1995).

También existen efectos nocivos que con contacto o inhalación de estos fertilizantes químicos altera y provoca daños en la salud humana (Castañeda, 1995), pues son causantes de enfermedades en el sistema respiratorio, inmunitario y endocrino; además de lesiones al cerebro, al sistema nervioso y al hígado, también producen defectos de nacimiento y esterilidad, (Maier R, 2008). Las intoxicaciones por fertilizantes químicos han generado un impacto negativo en los agricultores que gran parte de su vida han trabajado en la producción de cultivos de flores, leguminosas, frutales y hortalizas, en donde se emplea permanentemente fertilizantes químicos como el Triple 15 y el 10-30 fertilizantes que presentan un valor económico en el mercado lo cual incrementa su uso como medio para agilizar la producción de los cultivos (Banchemo, 1983).

Bacterias promotoras de crecimiento vegetal.

El aumento de la producción agrícola y comercio exitoso de las hortalizas ha requerido de la adición de fertilizantes químicos para ayudar maximizar la producción y las condiciones del suelo (Sáenz, 2006), pero dadas las consecuencias del uso de los fertilizantes químicos, el desarrollo de la producción agrícola de la mano de la biotecnología, ha generado nuevas prácticas que ayudan a mejorar la estructura y la calidad del suelo como son entre otras:

- Técnicas asociadas al rendimiento de la producción de cultivos basados en la biota microbiana que posee el suelo y la planta (Faz, 1991).
- Líneas de investigación que llevan a analizar la biodiversidad de algunos microorganismos, que se encuentran asociados con el ciclo de nutrientes del suelo, por la acción de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Vega, 1985).
- Investigación sobre las poblaciones de artrópodos y anélidos que ayudan en la degradación de materia orgánica y mantenimiento del suelo estable (Richardson, 2009).

Los avances en la ciencia han permitido que el hombre incursione en el uso de microorganismos, como lo son las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, como vía para el desarrollo de biofertilizantes y como métodos de biocontrol para proteger a las plantas contra el ataque de patógenos, plagas y malezas (Faz, 1991). Los biofertilizantes a partir de bacterias son usualmente usados en los suelos agrícolas como alternativa ambientalmente amigable; estas prácticas permiten por ejemplo la fijación simbiótica de nitrógeno y la solubilización de fosfato, logrando disminuir el uso de fertilizantes químicos (Strobel, 2003), por lo tanto pueden contribuir al manejo sustentable de la producción agrícola, mejorar la calidad del suelo y el ciclo de nutrientes por acción microbiana (Cunningham, 1995; McCutcheon, S., 2003).

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal poseen la capacidad de estimular directamente el desarrollo de las plantas a través de distintos mecanismos como la fijación biológica de nitrógeno atmosférico, la producción de sustancias reguladoras del crecimiento como las auxinas (Arshad & Frankenberger, 1998), la solubilización de minerales como el fosfato, y mecanismos indirectos como la inhibición del crecimiento de patógenos en el suelo que afectan a la planta, (Utkhede, 1999) y la interacción sinérgica con otros microorganismos del suelo,

(Bashan, 1996). Todo lo anterior con miras a mejorar las condiciones necesarias para la producción agrícola y con el objetivo de dejar atrás el uso excesivo de insumos químicos.

Existen microorganismos no simbióticos que son fijadores de nitrógeno atmosférico y lo convierten en compuestos nitrogenados fácilmente asimilables por las plantas; estos microorganismos pueden ser de vida libre, asociados o constituyendo simbiosis, Moreno y (Rojas, 2008). Estas bacterias están distribuidas en suelos, aguas y heces de animales y también algunas especies de cianobacterias que se desarrollan independientemente sobre rocas y sedimentos en las costas, fijan N_2 y lo liberan al medio y éste puede ser aprovechado por otros organismos (Vanegas, 2006); estas bacterias también pueden ser productoras de sustancias promotoras de crecimiento vegetal como bacterias del género *Azotobacter*, la cual ha demostrado un aumento significativo de los rendimientos de los cultivos de leguminosas y hortalizas, ahorrando en fertilizantes minerales y ayudando en la disminución de la contaminación ambiental (Singh, 2003).

También existen otros mecanismos de contaminación en el suelo producido por los fertilizantes los fosfatos inorgánicos aplicados como fertilizantes químicos también son inmovilizados en el suelo y como consecuencia no son solubles para ser aprovechados por los cultivos (Peix , 2001). Por lo tanto se considera, que la solubilización de distintas rocas fosfatadas y de otras fuentes de fósforo inorgánico por los microorganismos del suelo es una alternativa fundamental para incrementar la cantidad disponible de este nutriente para las plantas (Illmer & Schinner, 1992).

Estudios realizados demuestran que el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal son una alternativa de repoblamiento de los manglares Colombianos deteriorados por el hombre en la isla de San Andrés, (Polanía, 2001). El empleo de estas bacterias que fueron aisladas de la misma

zona ha permitido entre otros, la transformación de nutrientes y la fijación de nitrógeno dentro de dichos ecosistemas; convirtiéndose entonces en una alternativa de promoción en la reforestación de la zona de los manglares (Holguín, 2001).

En la ciudad de Montería, Departamento de Córdoba en Colombia, el uso de fertilizantes químicos causó un fuerte daño y deterioro de los suelos lo que produjo erosión en el suelo y pérdida constante de las cosechas en la producción de rábanos, ante ello se efectuó como solución el uso de cepas bacterianas de *Azobacter sp* como bionoculante y biofertilizante en dichas plantas, lo cual dio como resultado reducción en costos del cultivo y sostenibilidad con el medio ambiente garantizando un producto limpio y mejora del suelo y de las zonas utilizadas en para dichos cultivos, (Gómez, 2000).

Biofertilizantes utilizados en hortalizas

Las hortalizas presentan un alto nivel de consumo en la canasta familiar colombiana, en los últimos tiempos se han visto beneficiadas en los nuevos sistemas de agricultura orgánica como medio para proveer un mejor alimento y un mejor producto al consumidor (Payne, 1997); dichas prácticas permiten facilitar la biodiversidad en el suelo, lo cual ayuda a mantener el equilibrio del agro ecosistema (Ingham, 1997). Los productos como la lechuga, acelga, perejil, remolacha, repollo y zanahoria se producen en nuestro país a gran escala ya que son productos de consumo de la canasta familiar.

Las investigaciones realizadas con el uso de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal en hortalizas, indican que son una alternativa de desarrollo en las zonas agrícolas, con el fin de disminuir la contaminación y los daños producidos en el ambiente, así como impacto en otros

organismos que se encuentran en el suelo; todo esto como estrategia para permitir una mejor estabilidad y productividad al cultivo, una recuperación del suelo y su microbiota normal (Mendez &Maier, 2008).

En México, el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal se ha considerado como una alternativa para la germinación de semillas de lechuga en condiciones de laboratorio usando bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre o en simbiosis teniendo en cuenta su potencial uso como biofertilizantes; entre las bacterias que usaron en estos ensayos de germinación están las pertenecientes a los géneros *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia* y *Azospirillum* (Beringer, 1984) (Ferrera C,1995).

Lugar de estudio: municipio de Guasca Cundinamarca

El municipio de Guasca se encuentra situado al nororiente del Departamento de Cundinamarca, se extiende desde límites con la Sabana de Bogotá hasta los Llanos Orientales. Posee una altitud promedio de 2800 m.s.n.m. y cuenta con una extensión de 327 Km², la cual en su mayoría corresponden al área rural en donde una parte se ocupa en la actividad agropecuaria y otra parte al parque Nacional Natural Chingaza y otras reservas (Ewel, 1980).

La parte de producción agrícola cuenta con una gran variedad de cultivos como por ejemplo papa, hortalizas, frutales y flores; la producción ganadera se encuentra distribuida entre rastrojo, pastos manejados y pastos naturales; igualmente hay agro industria representada básicamente por invernaderos y algunas áreas de viveros (Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 2016). Para el desarrollo productivo agrícola en Guasca se emplean diferentes tipos de fertilizantes químicos, los más utilizados son la urea; la cual se obtiene por la combinación del

dióxido de carbono con el amoníaco. El triple 15 es otro fertilizante muy usado que permite tener una fuente óptima de los tres macro nutrientes primarios N-P-K; otro fertilizante químico empleado es el 10-30 que presenta un complejo granulado con una proporción de contenidos de nitrógeno y fósforo N-P (Vega, 1985).

Objetivo general

Caracterizar las bacterias promotoras del crecimiento vegetal aisladas en la finca La Loma, Vereda Santa Lucia, municipio de Guasca Cundinamarca y determinar su influencia en el desarrollo de semillas de lechuga y acelga hasta estado de plántula.

Objetivos específicos

Seleccionar las bacterias aisladas de un suelo de la finca La Loma Vereda Santa Lucia que presentan características como potenciales promotoras del crecimiento vegetal.

Determinar la influencia de las bacterias seleccionadas, en el crecimiento de lechuga y acelga hasta estado de plántula.

Metodología

Materiales y métodos:

Lugar del muestreo

El muestreo de suelo se realizó en la finca La Loma Vereda Santa Lucia en Guasca Cundinamarca, en una zona que se encuentra en potreros que no son pastados es decir no se llevan a cabo prácticas agrícolas o pecuarias que los altere y por consiguiente se encuentra poblado de especies de gramíneas, leguminosas y asteráceas. La zona cuenta con una temperatura media de 13°C, presenta latitud de 4° 50 20.50N y una longitud de 73 ° 55 16 920 .

Muestreo del suelo

Se tomaron 5 muestras de suelo en una parte de la finca, a una profundidad de 5 cm, en un área de 20 m², el muestreo se ejecutó en forma de zigzag, según metodología de (Martyniuk, 2002) y Tejera (2005) cada muestra tuvo un peso de 1kg.

Las muestras compuestas fueron tomadas de acuerdo con la metodología de (Torres, 2000), es decir se empacaron en bolsas plásticas, esterilizadas, con cierre hermético, y posteriormente se almacenaron en cajas térmicas de poli estireno expandido a temperatura ambiente y se transportaron al laboratorio de microbiología de la Universidad de la Salle.

Procesamiento de las muestras

Una vez obtenidas las muestras se dividieron en dos grupos: , 5 sub muestras de 500 gr para análisis microbiológicos y otras 5 sub muestras también de 500 gr que se unieron en una muestra compuesta para el análisis fisicoquímico; este último fue realizado en el Instituto Geográfico Agustín Codazzi – IGAC, en la Subdirección de Agrología - Laboratorio Nacional de Suelos, en donde se evaluaron las siguientes variables: fósforo total disponible, materia orgánica total, pH y otros macro nutrientes disponibles.

Aislamiento primario bacteriano a partir de las sub muestras del suelo

Las sub muestras del suelo fueron analizadas en el laboratorio de la Universidad de la Salle, estas fueron colocadas separando un gramo (1g) de suelo en tubos de ensayo con tapa rosca con nueve mililitros (9ml) de agua destilada estéril; posteriormente se realizaron diluciones seriadas, las cuales fueron sembradas en cajas de Petri con el medio de Ashby (Ver Anexo1) (Franco, 2008) que se ajustó a un pH de 7,2 y 7,3 y se llevaron a incubar a 30°C por 4 días.

Aislamiento secundario bacteriano:

Se realizó el aislamiento secundario, a partir de las colonias obtenidas en el aislamiento primario; para ello se realizó una siembra por agotamiento de las colonias y también se incubaron durante 4 días a 30°C. Posteriormente, se observó la morfología microscópica de las bacterias por tinción de Gram (Tejera, 2005).

Determinación de bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico:

Para la determinación indirecta de cuales de los aislamientos corresponden a bacterias fijadoras de Nitrógeno, se realizaron 5 pases sucesivos mediante siembras por agotamiento en medio libre

de nitrógeno en agar Ashby por duplicado, que se incubaron a 30°C por 4 días (Döbereiner,1975).

Determinación de bacterias solubilizadoras de fosfato:

Para la determinación de las bacterias que solubilizan fosfatos, se sembraron las colonias de las cepas que presentaron crecimiento en el medio con nitrógeno y que se caracterizadas previamente por morfología microscópica; éstas se sembraron en cajas de Petri en un medio de SRS que permite el crecimiento de bacterias que presenta la capacidad de subilizar fosfatos (Sundara S,1963) (Ver Anexo 2) , a pH 7,0 se incubaron por 3 días a 30°C. Se seleccionaron las colonias de bacterias que crecieron acidificando el medio de cultivo y formando un halo transparente alrededor de la colonia, indicando la actividad solubilizadora. La prueba se realizó por triplicado para cada uno de los pases realizados (Rigde A, 1971).

Conservación de los aislamientos:

A partir de las cepas aisladas y evaluadas, se realizaron cultivos en medio de agar nutritivo las cuales se incubaron a 30°C por 4 días.

Los cultivos se conservaron en tubos estériles de Eppendorf de 1 ml con un 10% v/v de glicerol y se congelaron a -70°C para pruebas posteriores (Aquilantil L, 2004 & Poutou R, 1994).

Bioensayos para la estimación del crecimiento de las semillas de lechuga y acelga:

Las cepas seleccionadas se inocularon en semillas de *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris*.

Las semillas de lechuga y acelga fueron adquiridas en un establecimiento comercial certificado, para evitar los rastros de fungicida que contiene las semillas fueron lavadas, posteriormente se desinfectaron sumergiéndolas en hipoclorito de Sodio al 0,8% y se agitaron de forma constante durante 15 min, luego se lavaron 3 veces con abundante agua destilada estéril.

Para la inoculación de las semillas, previamente se sembró cada aislamiento seleccionado en medio de caldo nutritivo y se incubó por 3 días a 30°C, posteriormente se centrifugaron a 4.500 rpm durante 10 minutos, luego se resuspendieron en solución salina estéril (NaCl 0,85%) y se ajustó la absorbancia a 600 nm a una medida entre 0,098 y 0,100. Finalmente las semillas fueron sumergidas en esta solución bacteriana durante 30 minutos (Fraga, 1999).

En cajas de Petri con papel absorbente se colocaron 10 semillas previamente inoculadas por cada una de las cuatro cepas escogidas para la inoculación y por triplicado. También se realizó por triplicado la prueba control con solo agua y la del control con el fertilizante 10-30, (complejo de 10% de nitrógeno N y 30 % fosforo P) para la cual también se tuvieron las semillas con solo agua y el uso del fertilizante fue posterior a la germinación de las semillas. El papel absorbente en cada caja de Petri fue humedecido con agua destilada estéril, y todas las cajas fueron colocadas en un lugar a temperatura ambiente y en oscuridad por 7 días.

Las plántulas fueron transplantadas a semilleros con algodón y colocadas en condiciones de invernadero, para garantizar la hidratación apropiada de las semillas se mantuvo humedecido el algodón todos los días. Después de un mes el algodón fue reemplazado por tierra esterilizada con autoclave, la cual fue obtenida del mismo lugar del muestreo y se mantuvo otro mes en condiciones de invernadero. Para las plántulas del control positivo cuando tuvieron ya un par de hojas se les adicionó el fertilizante 10-30, (complejo de 10% de nitrógeno N y 30 % fosforo

P) con esto para evitar que se quemaran con el fertilizante, y se mantuvieron con agua y luz constante.

A los 60 días posteriores a la germinación de las semillas de lechuga y acelga, se evaluó el crecimiento de las plántulas, teniendo en cuenta parámetros de medidas para longitud de raíz y longitud de las hojas, cantidad de hojas, peso fresco y peso seco; igualmente se tuvieron en cuenta estos parámetros en los dos controles uno con agua y el control positivo con el uso del fertilizante 10-30. (Complejo de 10% de nitrógeno N y 30 % fosforo P).

Análisis estadístico

El diseño estadístico utilizado se basó en la normalidad de los datos y de los residuales obtenidos y determinados por un análisis de varianza o ANOVA, adicionalmente se aplicó el test estadístico de Kruskal-Wallis, la Prueba t de student y la prueba de Bonferroni para probar si hay diferencias significativas entre las plántulas inoculadas con cepas aisladas y los controles. Finalmente se realizó una prueba con el test de Dunet, para comprobar las diferencias de las cepas seleccionadas con mayor eficiencia frente a los controles. Para todos los análisis, se utilizó el programa estadístico R- STUDENT.

Resultados y Discusión

Se aislaron 38 colonias de las 5 muestras tomadas del suelo de la finca la Loma Vereda Santa Lucia, de las cuales se preseleccionaron 7 porque crecieron durante los 5 pases sucesivos en el

medio libre de nitrógeno, Ashby y al final solo se seleccionaron 4 de ellas las cuales también presentaban la característica de solubilizar fosfatos en medio de sales SRS (tabla 1). Las 4 cepas escogidas fueron A1, A3, A5 y A6. (Tabla 1)

Tabla 1: Características de las bacterias aisladas y seleccionadas en este estudio

Aislamiento	Muestra de suelo	Crecimiento en agar Ashby	Solubilización de fosfato
A1	muestra 3	Positivo	Positivo
A2	muestra 5	Positivo	Negativo
A3	muestra 1	Positivo	Positivo
A4	muestra 2	Positivo	Negativo
A5	muestra 1	Positivo	Positivo

A6	muestra 4	Positivo	Positivo
A7	muestra 1	Positivo	Negativo

Crecimiento en medio libre de nitrógeno (positivo), capacidad para solubilizar fosfato en medio de sales (positivo), no presenta crecimiento o capacidad de solubilizar fosfatos (negativo).

Análisis fisicoquímico del suelo

El informe de los resultados del análisis físico químico realizado por el Instituto Geográfico Agustín Codazzi – IGAC, de la muestra suelo de la finca La Loma, Vereda Santa Lucia nos muestra la información registrada en las tablas 2, 3 y 4. (Ver Anexo 3 informe completo de los resultados obtenidos por el IGAC).

Tabla 2. Análisis fisicoquímico: cantidad de carbono orgánico, nitrógeno total y fósforo disponible en la muestra de suelo de la finca La Loma en la vereda Santa Lucia - Guasca

C.O %	N Total %	P Disponible (mg/Kg)
2,8300	0,14	0,42

Con base en los datos obtenidos en cuanto a la presencia de nitrógeno y disponibilidad de fósforo, en el suelo del área de muestreo se encontró, que están presentes en cantidades bajas en comparación con los requerimientos mínimos para la producción de legumbres y hortalizas en el

suelo de la finca La Loma Vereda Santa Lucia (tabla 2), según los datos obtenidos por IGAC que nos indica los valores óptimos para la zona dado por la temperatura y la clase de suelo (ver anexo 2) por lo cual es pertinente aprovechar procesos biológicos como la fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de fosfatos para aumentar la disponibilidad de estos macronutrientes, para la producción agrícola.

Tabla 3. Granulometría de la muestra de suelo de la finca La Loma en la vereda Santa Lucia - Guasca

ARENA%	LIMO%	ARCILLA%	CLASE TEXTURAL	pH
58,2	25,0	16.8	FA	6,0

F.A=Franco arenoso.

Los datos obtenidos en la tabla 3 de la granulometría de la muestra de la finca La Loma Vereda Santa Lucia, indican que éste presenta las condiciones adecuadas de un suelo apto para ser usado en actividades agrícolas con un pH ligeramente ácido de 6,0, en las hortalizas el pH óptimo para la siembra de acelga se encuentra entre 6,0 – 7,5 y para lechuga entre 5,8 – 7,2 (Castelblanco V, comunicación personal).

Tabla 4. Otros macronutrientes presentes en el suelo de la muestra del suelo de la finca La Loma en la vereda Santa Lucia

Ca	Mg	K	Na	B.T
3,5	1,2	0,59	00,6	5,35

B.T= Bases totales Colocar valores de referencia, ya que estos datos no nos dicen nada.

Frente a la presencia de los otros macronutrientes en la zona del muestreo, la tabla 4 muestra que están en cantidades altas (según los parámetros del IGAC, anexo 3) , para las condiciones de clima frío del municipio de Guasca Cundinamarca. a comparar estos resultados con los de la tabla número 2, presencia de nitrógeno y fósforo (que están en cantidades bajas); podemos referenciar que es necesario aumentar el N y el P para tener un suelo óptimo para el crecimiento y desarrollo de hortalizas.

Germinación de semillas de lechuga y acelga.

Se determinó el efecto de la inoculación con las 4 cepas (A1, A3, A5 y A6) en la germinación de semillas de lechuga y acelga a los 7 días. En la tabla 5 se observa el % de germinación de las semillas de lechuga y acelga con las cepas inoculadas y en los dos controles. Se observó que en las semillas de lechuga y acelga se obtuvo mayor germinación con la inoculación de la cepa A6, mientras el porcentaje más bajo se evidenció en las semillas con agua y el control. En la germinación de las semillas con el control del fertilizante químico, como las semillas estuvieron

primero en agua y a los 20 días ya en estado de plántula se añadió el fertilizante para evitar daños en la radícula y las hojas, se observó un % porcentaje de germinación bueno.

Tabla 5. Germinación de las semillas de lechuga y acelga inoculadas con las 4 bacterias y los controles

Tratamiento	%germinación de las semillas	
	Lechuga	Acelga
Cepa A1	43,3	73,3
Cepa A3	33,3	76,6
Cepa A5	53,3	63,3
Cepa A6	70	70
Control-agua	43,3	50
Control- fertilizante 10-30*	40	46,6

* El fertilizante químico 10-30 se adicionó a los 20 días post-germinación para evitar daños en las raíces y hojas.

Crecimiento de las plántulas de lechuga y acelga.

Posteriormente, se inocularon las 4 cepas (A1, A3, A5 y A6) aisladas y caracterizadas de las muestras de suelo de la finca La Loma vereda Santa Lucia, en semillas de *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris*; en el estado de plántula se midieron 5 parámetros, los cuales fueron longitud de la raíz, largo de las hojas, número de hojas, peso fresco y peso seco; esto, para determinar si las cepas inoculadas tenían mayor efecto de crecimiento en las plántulas de lechuga y acelga comparadas con los controles: agua y fertilizante 10-30.

El método estadístico utilizado fue el análisis de varianza o ANOVA para determinar si existen diferencias significativas en el crecimiento de las plántulas, obtenidas a partir de las semillas inoculadas con las 4 cepas seleccionadas; para esto fue necesario cumplir 3 supuestos fundamentales:

1. Las poblaciones son normales.
2. Las poblaciones son independientes.
3. Las poblaciones tienen igual varianza.

Durante el procedimiento estadístico que se llevó a cabo los 3 supuestos para realizar la ANOVA, dos de ellas no se cumplieron las cuales fueron, las poblaciones no son normales y las poblaciones no presentan igual varianza en los datos obtenidos en los parámetros de medida; por lo cual, para determinar la diferencia entre las cepas y los controles se tuvo que realizar una transformación de los datos por su logaritmo natural, y pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis.

Efecto de la inoculación en la longitud de raíz.

En los análisis estadísticos de los resultados obtenidos en las gráficas se tuvo en cuenta los tests estadísticos propuestos el test de Kruskal Wallis pruebas t de student y la prueba de Bonferroni t el test de Dunet para garantizar la eficiencia de las cepas inoculadas en las semillas de acelga y lechuga; por lo cual se planteó como hipótesis la diferencia que existía entre las cepas y dos controles.

En las figuras 1 y 2 se presentan los resultados de la longitud de la raíz en las plántulas de lechuga y acelga; en los dos casos por medio del test de Kruskal Wallis se concluyó que existe evidencia estadística que demuestra que hay diferencia entre las cepas y los controles. Para determinar la cepa que presenta la diferencia se tuvo en cuenta las pruebas t de student y la prueba de Bonferroni; encontrando que la cepa A3 presentaba la mejor media de las cuatro cepas (figura 1 y 2) para la longitud de las raíces de las plántulas de lechuga y acelga (ver anexo 3 y 4).

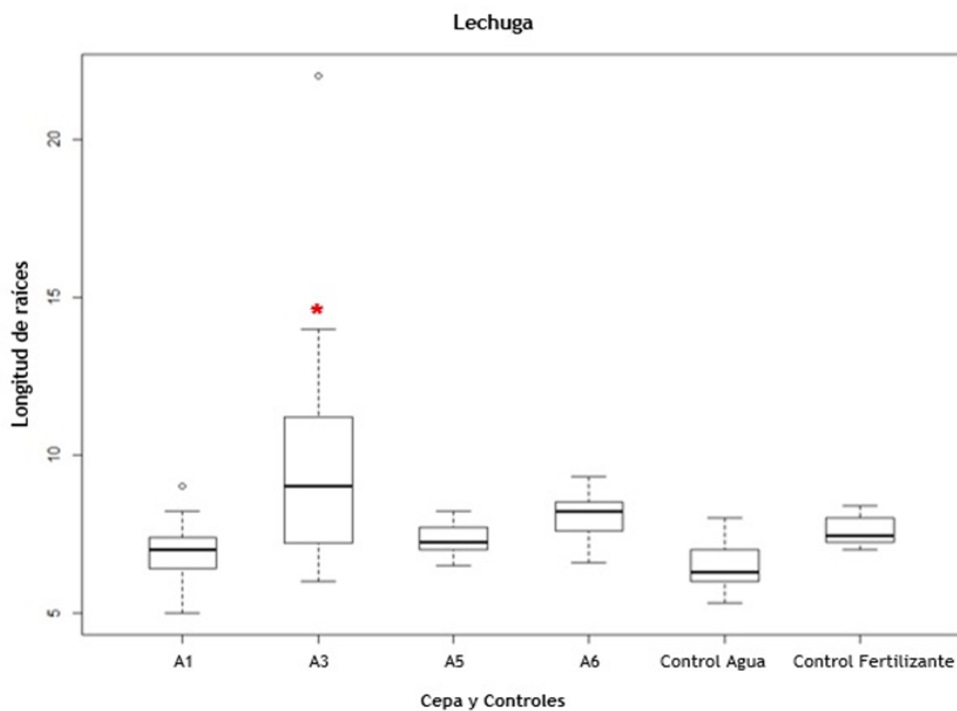


FIGURA 1. Efecto de la inoculación con las cepas A1, A2, A3 y A5 en la longitud de la raíz de *Lactuca sativa*

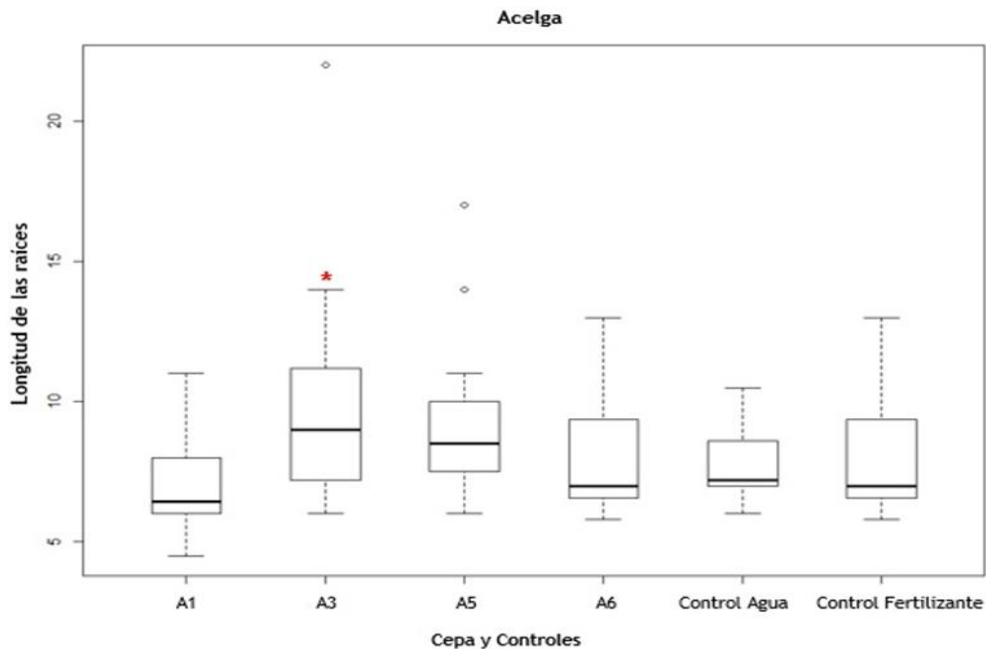


Figura 2. Efecto de la inoculación con las cepas A1, A2, A3 y A5 en la longitud de la raíz de *Beta vulgaris*.

La raíz de la lechuga en cultivos no sobrepasa los 25 cm de profundidad, el tener esta medida le permite a la raíz absorber los nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo de las hojas; en la raíz de los cultivos de acelga la medida no sobrepasa las 30 cm, esta medida también permite que la planta obtenga los nutrientes óptimos para su crecimiento (Di Benedetto, 2005). Durante las pruebas se observó que el crecimiento de la plántula con el control de agua fue muy bajo lo cual redujo la supervivencia de algunas de estas tanto de lechuga como de acelga, ya que se presentó desprendimiento de la raíz en el trasplante a los semilleros; con el control del

fertilizante se observó que hubo crecimiento después de añadir el fertilizante químico 10-30 a los 20 días, pero aun así no se obtuvieron datos mayores a comparación de la cepa A3 en la parte radicular tanto en plántulas de lechuga como de acelga.

En el momento de realizar cultivos de lechuga y acelga se recomienda utilizar agentes que provean nitrógeno y fósforo el papel de las raíces en la plantas cumple la función de absorción de agua y nutrientes y como consecuencia en el aumento de la eficiencia de la fotosíntesis y de la nutrición mineral que ya provee las cepas que presenta el mecanismo de patrocinarles ciertos macro nutrientes en este caso la cepa A3 podría estar aportando nitrógeno atmosférico y solubilizando fosfatos, en os cultivos de estas hortalizas se recomienda que haya una proporción de Fósforo 90-120 kg/ha de P_2O_5 Aplicar incorporado antes de trasplante Nitrógeno 90-100 kg/ha de N 30% antes del trasplante 70% a los 25 y 50 días después del trasplante 30% antes del trasplante (Kumar A, 20011).

La inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en las raíces de diferentes hortalizas ha demostrado que estos microorganismos pueden llegar a contribuir en la absorción de agua y nutrientes por medio de las raíces, ayudando en el aumento y tamaño de la biomasa de este tipo de plantas (Ashrafuzzaman M, 2009), lo cual se puede relacionar con los resultados obtenidos al inocular las semillas de lechuga y acelga con el aislamiento A3.

Efecto de la inoculación en las hojas

En las figuras 3 y 4 se presentan los resultados obtenidos de la zona foliar de las plántulas de lechuga y acelga propuestos número de hojas, en la figuras 5 y 6 longitud de las hojas, en las

figuras 7 y 8 peso seco y peso fresco de las plántulas de *Lactuca sativa* y *Beta Vulgaris* con la inoculación de las 4 cepas y 2 controles: el control de agua y el control del fertilizante químico.

En la figuras 3, 4 encontramos los resultados del número de hojas en plántulas de lechuga y acelga, se realizó el test estadístico de Kruskal Wallis con el cual se evidenció que existe una diferencia estadística entre las cepas y los 2 controles (control agua y control con el fertilizante químico 10-30) para determinar la cepa que presento la diferencia en las medias se tuvo en cuenta las pruebas t de student y la prueba de Bonferroni, y se determinó que la cepa A1 presento la diferencia entre las 4 cepas, finalmente la prueba de Dunnet nos verifico que existe una diferencia entre la cepa A1 los controles. (ver anexo 3 y 4).

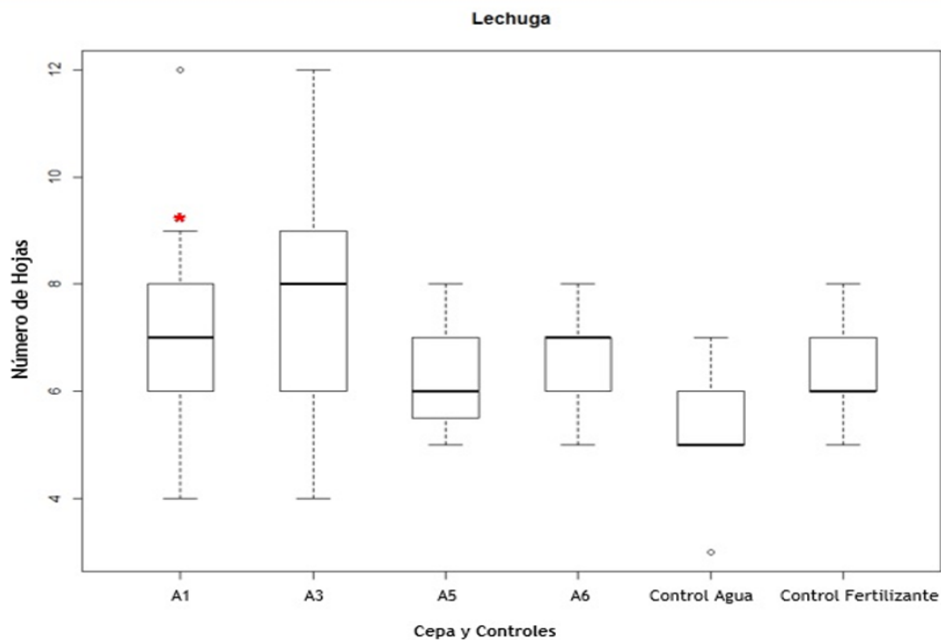


Figura 3. Efecto de la inoculación con las cepas A1, A2, A3 y A5 en el número de hojas de *Lactuca sativa*.

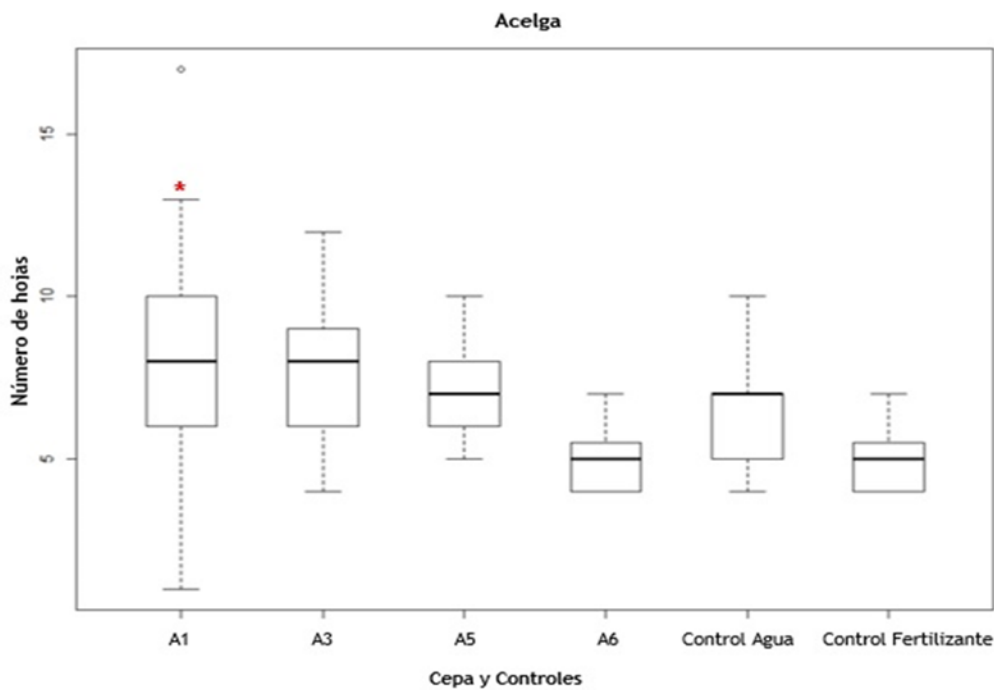


Figura 4. Efecto de la inoculación con las cepas A1, A2, A3 y A5 en el número de hojas de *Beta vulgaris*.

Para determinar el parámetro de medida de longitud de las hojas de lechuga y acelga en las figuras 5 y 6 se realizó el test de Kruskal Wallis, donde se concluyó que existe evidencia estadística que demuestra que hay diferencia entre las cepas y los controles determina por la media estadística de los datos de cada una de las cepa y los controles . En estas figuras se puede observar que actúa una cepa distinta en cada una de las hortalizas en lechuga A1 y en

acelga la cepa A6; igualmente para determinar la eficiencia de estas cepas, se realizó las pruebas t de student y la prueba de Bonferroni, donde se encontró que estas cepas presentan diferencia; para comprobar esto se realiza finalmente la prueba de Dunnet en los dos casos (Ver anexo 3 y 4).

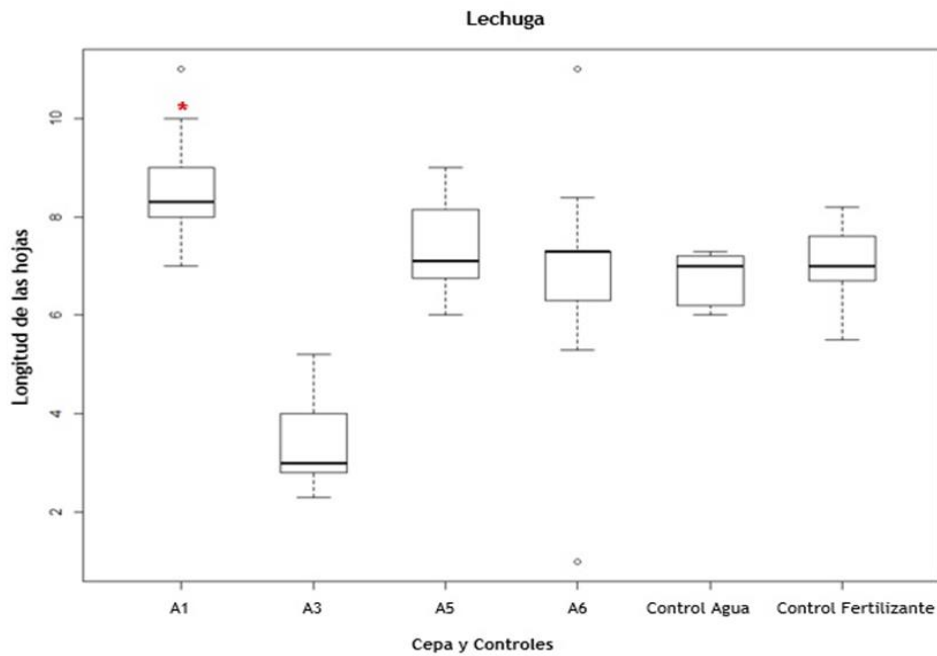


Figura 5. Efecto de la inoculación con las cepas A1, A2, A3 y A5 en la longitud de las hojas en *Lactuca sativa*.

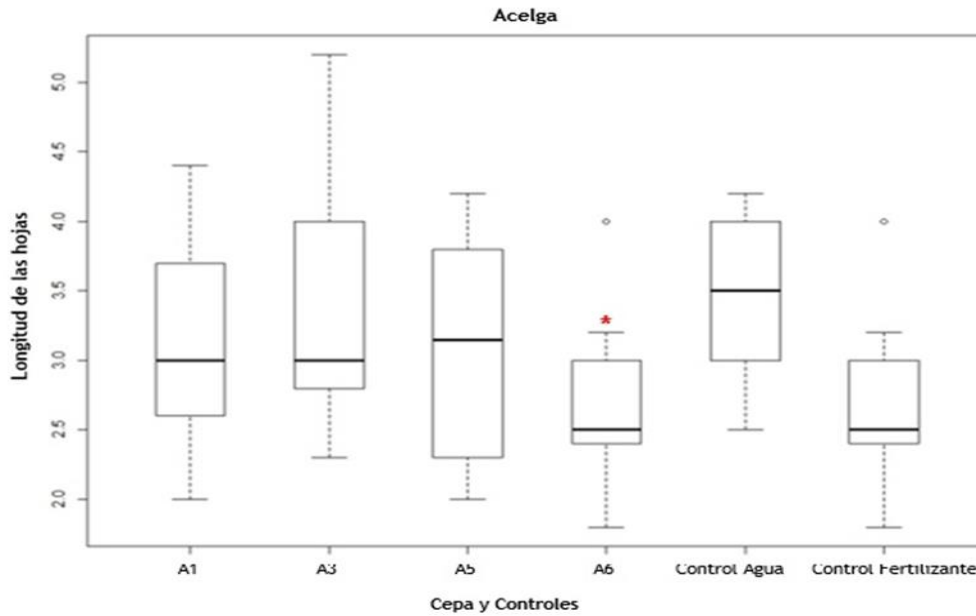


Figura 6. Efecto de la inoculación con las cepas A1, A2, A3 y A5 en la longitud de hojas de *Beta vulgaris*.

En las figuras 7 (A y B) se presentan los resultados de los parámetros de peso seco y peso fresco en las plántulas de lechuga, en los dos parámetros se realizó el test de Kruskal Wallis en el que se concluyó que existe evidencia estadística que demuestra que hay diferencia entre las cepas y los controles; para determinar cuál de las cepas presenta la mayor diferencia, se tuvo en cuenta las pruebas t de student y la prueba de Bonferroni. Se encontró en los parámetros, que la cepa A1 presenta la mejor media; para determinar la diferencia con los dos controles se realizó una prueba final de Dunnet (ver anexo 3 y 4).

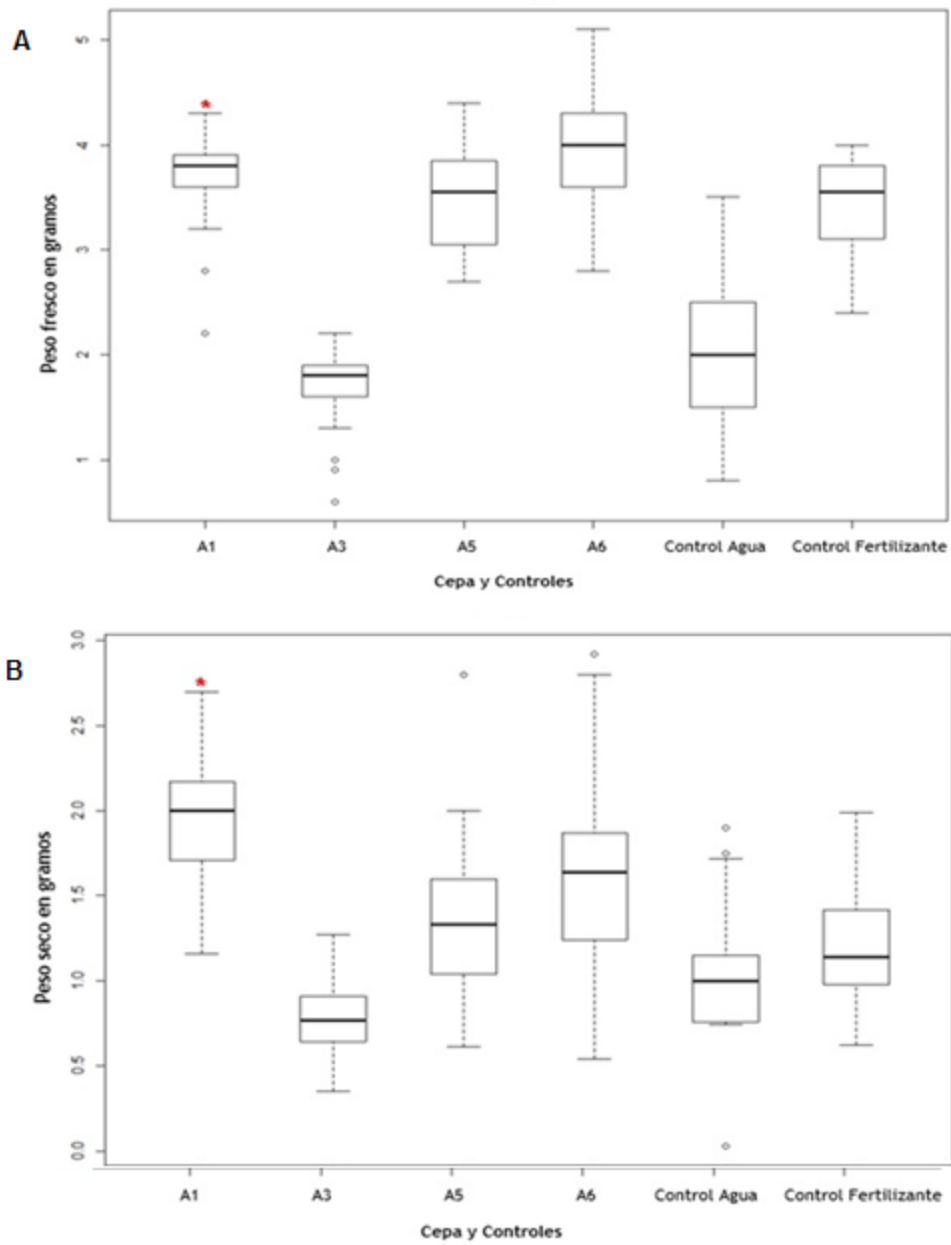


Figura 7. Efecto de la inoculación con las cepas A1, A2, A3 y A5 en el peso fresco (A) y peso seco (B) de las hojas de *Lactuca sativa*.

En la figura 8 (A y B) se presentan los resultados de los parámetros de peso seco y peso fresco en las plántulas de acelga, en los dos parámetros se realizó el test de Kruskal Wallis en el que se concluyó que existe evidencia estadística que demuestra que hay diferencia entre las cepas y los controles. Para determinar cuál de las cepas presenta la mayor diferencia o la mejor media, se tuvo en cuenta las pruebas t de student y la prueba de Bonferroni; encontrando que las cepas A3 y A6 presentan la mejor media. Así mismo, para determinar la diferencia de estas cepas con los dos controles se realizó una prueba final de Dunnet en los dos parámetros (ver anexo 3 y 4).

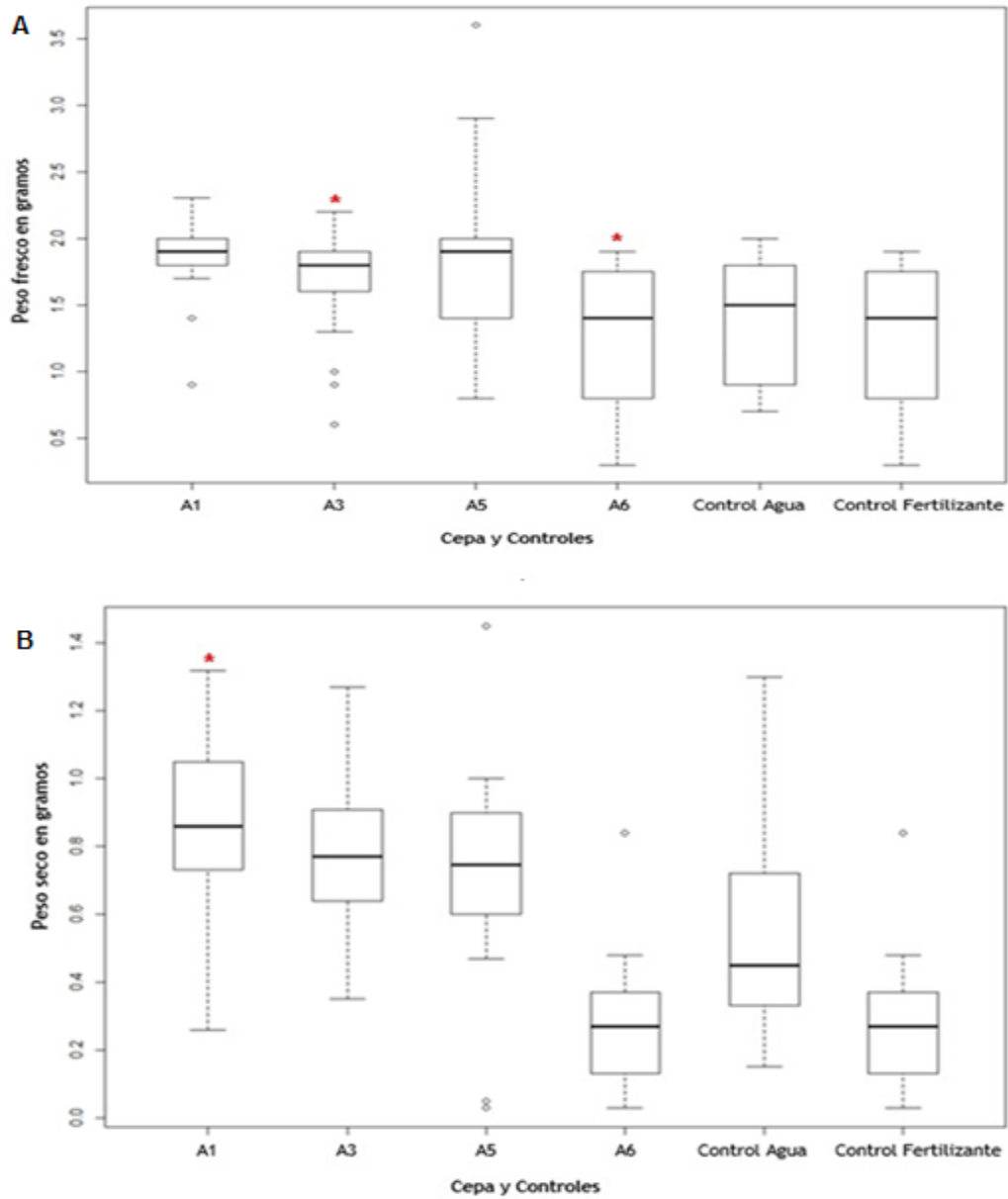


Figura 8. Efecto de la inoculación con las cepas A1, A2, A3 y A5 en el peso fresco (A) y seco (B) de *Beta vulgaris*

En los 4 parámetros que determinan la zona foliar (número de hojas, longitud de hojas, peso seco y peso fresco) de las plántulas de lechuga, se encontró que la inoculación con una cepa

causa una diferencia en las plántulas comparada con las demás, esta es la cepa A1, con la cual se obtiene la mejor media entre los tratamientos.

Para identificar si verdaderamente existen diferencias entre la cepa A1 y los controles se utilizó la prueba de Dunnet, en esta prueba se comprobó que existe diferencia entre la cepa A1 y los dos controles en los 4 parámetros de medida, comprobando que esta cepa es la que presenta mayor rendimiento en el número de hojas, longitud de las hojas, peso fresco y seco de las hojas de las plántulas de lechuga (figura 3,4, 7) (ver anexo 4).

Las hojas de lechuga representan un alto nivel nutricional, las hojas exteriores de esta hortaliza son ricas en vitaminas C, A, B, y E referencia! Y las interiores es una planta rica en principios vitamínicos; contiene el 94,8 % de agua, el 1,2 % de proteína, el 0,2 % grasas y 2,9 % de hidratos de carbono. El obtener una plántula con un número mayor de hojas ofrece un producto más atractivo para el consumidor por su tamaño y beneficio (Wright J, 2009), por lo tanto la inoculación de las semillas de *Latuca sativa* con la bacteria A1, puede ser beneficiosa.

Al obtener que la inoculación de las semillas con la cepa A1 obtuvo buenos resultados en la zona foliar, nos indica que esta cepa presenta rendimiento en el crecimiento de esta hortaliza; promoviendo así un producto con grandes beneficios. Así mismo, es notoria la diferencia existente entre las plántulas cultivadas con el fertilizante químico y las bacterias aisladas, pues aunque el fertilizante químico provee de los macronutrientes que ayudan al crecimiento y desarrollo de las plántulas, durante el trabajo realizado siempre evidenció una menor eficacia. , (figura 7),

El tratamiento con la cepa A1 nos indicó que puede no ser necesario hacer uso de fertilizantes químicos, ya que por medio de la inoculación de la cepa en las semillas de lechuga obtuvimos en sus hojas mayor crecimiento con grandes beneficios para el productor.

Con respecto a los resultados de la zona foliar de las plántulas de acelga (figura 4, 6 y 8) se encontró que al inocular con 3 de las cepas asiladas, se presentaron efectos en el crecimiento de la especie vegetal; lo cual se ve reflejado en el número de hojas y en el peso seco que observamos en las figuras 4 y 8. Además, se observa que la cepa A1 presentó el mayor rendimiento, lo cual está soportado por medio de las pruebas estadísticas realizadas (ver anexo 4).

La cepa A1 presentó la mayor media frente a las otras 3 cepas lo cual beneficia en la cantidad de hojas de las plántulas de acelga (figura 4) donde en su producción es importante por el alto consumo de esta hortaliza las hojas de acelga aportan un alto contenido en fibra soluble que favorecen el tránsito intestinal y previenen el estreñimiento. Son muy ricas en vitaminas y minerales Aportan cantidades muy significativas de yodo (una ración equivale al 44% de las ingestas recomendadas al día —IR/día— en hombres, y al 56% en mujeres); hierro (53% de las IR/día en hombres y 29% en mujeres); magnesio (35% de las IR/día en hombres y 38% en mujeres) y algo inferiores de potasio (28% de las IR/día) y de calcio (20% de las IR/día). Por su alto contenido en calcio, la acelga debería de ser un alimento a incluir con regularidad en la dieta de personas mayores, embarazadas, niños en crecimiento y deportistas (Wright J, 2009); además, hay estudios que demuestran que la falta de hierro se relaciona con distintos tipos de anemia. En la acelga sobresalen estos nutrientes, lo que hace que sea interesante para incluirla en caso de esta enfermedad, por otro lado, sí se toma cruda en ensalada, su contenido natural en vitamina C favorece la absorción de hierro (Santamaría P, 1997).

Al igual que la lechuga en la acelga también se obtuvieron resultados positivos en el patrón del peso fresco, obteniendo así que la cepa A3 produjo un beneficio en el peso de las hojas por el alto contenido de agua que poseen estas hortalizas (figura 8).

Con los datos obtenidos en las plántulas de lechuga y acelga, se puede identificar que la cepa A1 fue la que presentó un mayor rendimiento, en la mayoría de los patrones estudiados, obteniendo plántulas con un mayor crecimiento en la raíz y en la zona foliar. , Aunque el tiempo de cosecha podría llegar a ser un poco más largo que con el uso de fertilizantes químicos, los resultados obtenidos nos demuestran igualmente que el hacer uso de este tipo de cepas, que presentan la característica de solubilizar fosfato y fijar nitrógeno atmosférico, pueden ayudar a las plantas en su mejor desarrollo de una manera biológica y amigable para el medio ambiente.

En la revisión de literatura, se encontró evidencia de estudios realizados sobre la inoculación de cepas nativas en semillas de hortalizas, estudios que demuestran que este tipo de microorganismos del suelo asociados a las plantas, contribuyen a activar la germinación de las semillas y a regular su crecimiento en las plántulas germinadas; estudios realizados con semillas de ají y berenjena al ser inoculados con la bacteria *Brevibacillus borstelensis*, mostraron que a los 25 días las plántulas presentaban mayor tamaño que las procedentes de semillas no tratadas con la bacteria (Pessaraki, M, 20011). Al igual que en este estudio, con la inoculación de las 4 cepas (aisladas del suelo de la Loma Vereda san Lucia en Guasca Cundinamarca) en las semillas de lechuga y acelga produjeron un efecto positivo en su germinación y desarrollo hasta el estado de plántula, durante un proceso de crecimiento de 60 días en condiciones de invernadero.

En otro estudio se reportó la influencia de *Bacillus subtilis* en semillas de lechuga verde donde la aplicación de la rizobacteria, promovió el crecimiento de la hortaliza medido en el número de hojas, peso fresco y peso seco; por el contrario, la raíz no presentó ningún cambio positivo o negativo con respecto al control (Liu W, Chen D, 2010); aunque en el presente estudio no se identificaron las bacterias que se inocularon en las semillas de lechuga y acelga, si se determinó que presentaron la característica de ser bacterias promotoras del crecimiento vegetal lo cual se vio evidenciado en los resultados (figuras 1-8). Adicionalmente, existen diversas investigaciones donde se aislaron cepas nativas de suelos que han sido alterados por la influencia de los agro- químicos que afectan el proceso de los cultivos y el rendimiento del suelo, al utilizar las bacterias aisladas como biofertilizantes ha traído beneficios positivos para la recuperación de suelos y nuevas cosechas (Compant S, Reiter, B, Sessitsch, A.; Nowak, J. Clément, C& Ait Barka, E, 2005). Esta investigación se realizó en condiciones de laboratorio y posteriormente en invernadero, se espera en un futuro realizar cultivo de estas dos hortalizas en campo abierto para evaluar las cepas A1 y A3; en un futuro también se espera poder ayudar a la zona donde se tomaron las muestras de suelo (finca la loma vereda en santa Lucia ayudar en el municipio Guasca Cundinamarca), donde los agricultores esperan incursionar en el uso de cultivos tratados de forma orgánica, dejando atrás el uso de fertilizantes químicos y evitando daños en el suelo, contaminación y pérdidas económicas por el consumo excesivo de químicos.

Conclusiones

-Se aislaron 4 bacterias (A1, A3, A5 y A6) que presentaron la característica de ser bacterias solubilizadoras de fosfato y probablemente fijadoras de nitrógeno atmosférico; características relacionadas con el potencial para ser promotoras del crecimiento vegetal.

-Con el aislamiento y caracterización de las bacterias tomadas de las muestras de suelo de la finca La Loma la vereda de Santa Lucia en Guasca Cundinamarca, se pudo encontrar bacterias con la capacidad de ser promotoras del crecimiento vegetal para las semillas de *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris* en condiciones de invernadero.

- Se observó que al inocular las semillas de *Lactuca sativa* y *Beta vulgaris* con la cepa A3, las plántulas presentaron mayor crecimiento en la raíces.

- Al inocular las semillas con la cepa A1 las plántulas de *Lactuca sativa* presentaron mayor rendimiento en la zona foliar con respecto a los parámetros medidos: número de hojas, longitud de las hojas, peso seco y peso fresco.

- En las plántulas de *Beta vulgaris* se encontró que al inocular las semillas con la cepa A1 presentaron un rendimiento mayor en número de hojas y peso seco.

-Con los resultados obtenidos, se puede determinar que la cepa A1 es la más adecuada para ser inoculada en semillas de lechuga para realizar ensayos en campo.

- Para pruebas posteriores en campo con semillas de acelga se recomienda evaluar las cepas A1 y A3, ya que estas dos cepas promovieron el crecimiento de las plántulas de acelga en cuanto la longitud de la raíz, donde se obtiene la absorción de nutrientes y una mayor biomasa.

Recomendaciones

Continuar caracterizando las cepas A1 y A3 con respecto a otras propiedades de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal.

En futuros experimentos, se recomienda hacer uso del suelo apenas se hayan inoculado las semillas para garantizar el crecimiento de las plántulas, para evitar desprendimiento o daños en la raíz de las plántulas en el momento del trasplante al suelo.

Es necesario evaluar la eficacia de las bacterias seleccionadas en este estudio, bajo condiciones reales de campo en el suelo, para determinar si se obtiene un mejor rendimiento de crecimiento en las condiciones naturales del suelo en la finca La Loma Vereda Santa Lucia en Guasca Cundinamarca.

También se recomienda hacer pruebas en otras especies de hortalizas con alto consumo en la canasta familiar y que representen un beneficio económico y agrícola en la región de Guasca Cundinamarca haciendo uso de fertilizantes biológicos como lo son las bacterias promotoras de crecimiento vegetal.

Bibliografía Deberías incluir referencias más recientes, sólo hay una del 2010 y las demás son anteriores a ésta!

Aquilantil L., Favilli F & Clemeti F (2004). Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azobacter* 6 soil Biology & Biochemistry Vol 36 1475 – 1483

Arshad, M. & W.T. Frankenberger Jr. (1998). Plant growthregulating substances in the rhizosphere: Microbial production and functions. Adv. Agron. 62: 45-151.

Ashrafuzzaman, M, Akhtar, F, Razi, M, Anamul, Md, Zahurul, M.; Shahidullah, S. M. &Meon, S. (2009).Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. African Journal of Biotechnology, vol. 8, no. 7, pp. 1247-1252.

Banchero, M (1989).Consecuencias en la salud del uso de agrotóxicos en el área de influencia de la Soc. De Fom. Rural de Sta. Rosa. Facultad de Agronomía. Montevideo. Bashan, Y., G.

Beringer, J.E. (1984). The significance of symbiotic nitrogen fixation in plant production. Plant Sci, vol 2, p. 269-286.

Castañeda, O. S. (1995). De la agricultura convencional a la agricultura orgánica. Aportes, vol 109, p. 18-22.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) <http://ciat.cgiar.org/>.

Compant, S.; Reiter, B.; Sessitsch, A.; Nowak, J.; Clément, C., y Ait Barka, E. (2005) Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by a plant groth-promoting bacterium, *Burkholderia* sp. Strain PsJN. Appl. Environ. Microbiol, vol. 71, p. 1685-1693.

Cunningham S.D, Betri W.R. Huang J.W. (1995). Phytoremediation of contaminated soils. Trends Biotechnol, vol 13, p. 393-397.

Di Benedetto A. (2005). Manejo de cultivos Hortícolas: bases ecofisiológicas y tecnológicas. Primera edición Buenos Aires, Orientadora grafica Editora (384 p.) .

Döbereiner, J. y J.M. Day. (1975). Nitrogen fixation in the rhizosphere of tropical grasses. (pp. 39-56).Cambridge University Press. Cambridge, UK.

Echegaray A. (1995). El ciclo del nitrógeno y fases que lo constituyen. (pp. 7-35). In: Ferrera-Cerrato, R. y J. Pérez M. (eds.). Agromicrobiología, elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México

Ewel, J. (1980). Tropical Succession. Manifold Routes to Maturity. Biotropica 12 (supplement): 1-95.

Faz, A. (1991). Principios de Protección de Plantas. Ed. Científico Técnica, Ciudad de La Habana, (601 pp).

Ferrera-Cerrato, R. (1995). Efecto de rizosfera. pp. 36-52. In: R. Ferrera-Cerrato y J. Pérez M. (eds.). Agromicrobiología. Elemento útil en la agricultura. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

Franco- Correa, (2010). Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos biofertilizantes comerciales. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.

Freyre, E. F. (1997). Sociología rural y sustentabilidad ambiental de la agricultura: Síntesis de una experiencia docente. Agroecología y Agricultura sostenible, Modulo 3, La Habana, (p. 2-5).

Gómez, J. (2000). Abonos orgánicos. Santiago de Cali: Universidad Nacional de Colombia.

Holguín & R. Ferrera-Cerrato. (1996). Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos.

II. Bacterias asociativas de la rizosfera. Terra, vol 14, p. 195-210.

Holguín G. (2001). The Role of Sediment Microorganisms in the Productivity, Conservation, and Rehabilitation of Mangrove Ecosystem: An Overview. Biol Fertil Soils, vol 33, p. 265-278.

Illmer, P & F Schinner. (1992). Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. Soil Biology and Biochemistry, vol 4, p. 389-395.

Kumar, Ankit; Prakash, Anil; Johri, B. N. (2011). *Bacillus* as PGPR in crop ecosystem. En: Bacteria in agrobiology: crop ecosystems. Springer Berlin Heidelberg,. (pp. 37-59. DOI 10.1007/978-3-642-18357-7_2).

Liu W.,Chen D. (2010). *Bacillus subtilis* for salt stress relief in vegetable cultivation. Acta Hort. 856: 237-242.

Maier R.M. (2008). Characterization of a bacterial community in an abandoned semiarid lead-zinc mine tailing site. Appl Environ Microbiol, vol 74, p. 3899-3907.

Martyniuk S (2002).Ocurrence of *Azobacter* Spp in some polish soils. Polish journal of Environmental Studies, vol 12, p 371- 374

McCutcheon S.C., Schnoor J.L. (2003). Phytoremediation: Transformation and control of contaminants. Wiley-Interscience, 1024 p.

Moreno, N., Rojas, J. (2008). Producción y formulación de prototipos de un biofertilizante a partir de bacterias nativas asociadas al cultivo de arroz (*Oryza sativa*). Rev Colomb Biotecnol, vol 10, p. 50-62.

Ortega-Rubio A., Naranjo A., Nieto A., Argüelles C., Salinas F., Aguilar R., Romero H. (1998). Suspended particles in atmosphere and respiratory health problems at La Paz city, Baja California Sur, Mexico. *J Environ Biol*, vol 19, p. 381-387.

Payne, N. (1997). Encuesta al consumidor urbano de Costa Rica sobre la demanda de productos orgánicos. Sin publicar.

Peix, A; AA Rivas-Boyer; PF Mateos; C Rodríguez-Barrueco; E Martínez-Molina & E Velázquez. (2001). Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. *Soil Biol. Biochem*, vol 33, p.103-110.

Pessaraki, M. (2001). Handbook of plant and crop physiology. New York: Marcel Dekker Inc., 973.(pp. ISBN: 0-8247-0546-7).

Polonia J, Santos a, Mancera J, Botero L. (2001). The Coastal Lagoon Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. En: Seeliger U, Kjerfve B. Editores. Coastal Marine Ecosystems of Latin America. Ecological Studies 144. Berlín y New York: Springer Verlag (pp 33-46).

Portnov Safriel U.N. (2004). Combating desertification in the Negev: dryland agriculture vs. dryland urbanization. *J Arid Environ*, vol 56, p. 659-680.

Poutou R; Amador E. & Candelario M (1994). Banco de células primario (BCP) Características y papel en la producción de proteína recombinantes *Biotecnología Aplicada*, vol 1, p. 55-59.

Richardson AE, Barea JM, McNeill AM, Prigent-Combaret C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, vol 321, p.305-339.

Rigde E, Rovira A, (1971). Phosphatase activity of intact young wheat roots under sterile and non-sterile conditions. *New Phytol*, vol 70, p. 1017-1026.

Rodríguez H, Fraga R.(1999) Phosphate Bacteria and Their Role in Plant Growth Promotion. *Biotechnol Adv*, vol 17, p. 319-339

Sáenz, L. (2006). Nutrición orgánica y tratamiento de desechos biodegradables. En: Documento técnico. <<http://www.engormix>.

Saikia, Vanita J. (2007). Biological nitrogen fixation with non-legumes: an achievable target or a dogma. *Current science*, vol 92, p. 317-322.

Santamaria, P., Elia, A., Gonnella, M., Serio, F., Todazo, E. (1997). I fattori che influenzano l'accumulo dei nitrati negli ortaggi. *L'Informatore agrario*, vol 40, p. 117-121.

Singh, R., Singh, D., Tyagi, P. K. (2003). Effect of *Azotobacter*, farmyard manure and nitrogen fertilization on productivity of pearl millet hybrids (*Pennisetum glaucum* (L) r. br) in semi-arid tropical environment. *Archives of Agronomy and Soil Science*, vol 49, p. 21-24.

Strobel G.A. (2003). Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*, vol 5, p. 535-544.

Sundara, Shinha, M. (1963). Organic phosphate solubilizers in soil. *Soil Science and Plant Nutrition*, vol 9, p. 45-49

Tejera n, Iluch (2005). Isolation and characterization of *Azobacter* and *Azospirillum* stains from the sugarcane rhizosphere. *plant and Soil*, vol 27, p.223-232.

Vanegas J, Sánchez j, Galindo t, Lozano a, Polanía j, Valencia H, (2006). Evaluación *in vitro* de la fijación de nitrógeno y solubilizadora de fosfato de microorganismos asociados a plántulas de manglar. Suelos Ecuatoriales, vol 36, p. 75-79.

Vega, S. (1985). Toxicología I: evaluación epidemiológica de riesgos causados por agentes químicos ambientales. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, OPS, OMS, 69 pp.

Wang X., Dong Z., Zhang J., Liu L. (2004). Modern dust storms in China: an overview. J Arid Environ, vol 58, p. 559–574.

Wright, J. (2009). Sustainable agriculture and food security in an era of oil scarcity: lessons from Cuba. United Kingdom.. ISBN: 978-1-84407-572-0.

Información del estudiante

Codigo:20112003

Correo: acastelblanco03@unisalle.edu.co/natalycastelblanco@hotmail.com