

AISLAMIENTOS DE CEPAS FIJADORAS DE NITROGENO Y SOLUBILIZADORAS DE FOSFORO DE SUELOS DEL VALLE MEDIO DEL RIO YARACUY

Learsy Padrón¹, D.Torres¹, J. Contreras¹, M. López² y C. Colmenares¹

¹Universidad Centrooccidental “Lisandro Alvarado” Departamento de Química y suelos. Unidad de Investigación de Suelos y Nutrición mineral de plantas” duiliotr@yahoo.com. ². instituto Nacional de Investigaciones agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay-Venezuela mlopez@inia.gob.ve

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el potencial de microorganismos nativos de los suelos del Valle Medio del Río Yaracuy para la producción de biofertilizantes, se aislaron cepas fijadoras de nitrógeno de vida libre (FNVL) y solubilizadoras de fósforo (SF) en los usos agrícolas: caña de azúcar, maíz, lechoza, pasto y bosque natural. Los medios de cultivo usados fueron Ashby y Pikoskaya, para las FNVL y SF respectivamente. Las bacterias FNVL se desarrollaron mejor en los usos pasto y caña de azúcar, dado que los valores bajos de materia orgánica y el uso intensivo del suelo en la caña de azúcar contribuyeron a la activación de mecanismos que estimulan la fijación de nitrógeno; en el caso del pasto, el mayor desarrollo puede ser atribuido a la recuperación de las propiedades físicas del suelo. Las bacterias SF presentaron mayor crecimiento en los usos con mayor contenido de fósforo (lechoza). El uso excesivo de maquinarias y agroquímicos, disminuyó la calidad del suelo y afectó el desarrollo de bacterias FNVL y SF, tal como se observó en el uso de maíz.

Palabras clave: biofertilizantes, fertilidad, sostenibilidad, manejo

INTRODUCCION

La agricultura convencional se ha basado en el uso excesivo de fertilizantes inorgánicos de origen industrial para garantizar la productividad agrícola, lo que ha conllevado a una deterioro progresivo de los recursos naturales, trayendo como consecuencia la disminución de la productividad de los suelos, el rendimiento de los cultivos y dificulta avanzar el desarrollo agrícola sustentable. El Valle del Medio Yaracuy, no escapa de esta realidad. 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 repercutido sobre la calidad del suelo y la producción optima de cultivos de interés agrícola en muchas zonas del Valle.

En este sentido, emergen otras opciones y estrategias de manejo de bajos insumos e incorporación de prácticas que consideran los recursos autóctonos y el ciclaje de nutrientes, a través del uso de abonos orgánicos: tales como estiércoles, compost, lodos residuales entre otros. Para lograr esto se requiere la reducción de los insumos externos, sustituyéndolos por tecnologías alternativas que permitan la utilización eficiente de los recursos locales, como los microorganismos presentes en el suelo, los cuales debidamente seleccionados, pueden ser capaces de aportar nutrientes y sustancias que promuevan el crecimiento y la productividad de los cultivos, tales como los biofertilizantes y bioestimulantes del crecimiento vegetal (Kolmans y Vázquez 1995). En Venezuela en los últimos años esta tecnología ha sido desarrollada por el Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA) como respuesta a las necesidades de los productores de mejorar sus tierras, pero dentro de una política de armonía con el ambiente, en tal

sentido el INIA conjuntamente con otros entes adscritos al Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierra (MPPAT), han venido seleccionando cepas nativas para la producción de biofertilizantes, fundamentalmente orientados a la productividad de los suelos ácidos del país, tales como las sabanas del Estado Guárico, cuya baja productividad está asociada a la baja fertilidad natural, la acidez, la toxicidad con aluminio y a problemas de fijación de fósforo (Torres et al., 2009). El presente trabajo tuvo como objetivo el aislamiento y la selección de cepas nativas con potencial para la producción de biofertilizantes con la finalidad de ofrecer una alternativa de bajo costo ambiental y económico para los agricultores, que garantice un mejoramiento del suelo y aporte nutrientes para el desarrollo de sus cultivos.

MATERIALES Y METODOS

Descripción del área de estudio.

El estudio fue llevado a cabo en EL Valle Medio del Río Yaracuy en las coordenadas UTM-SAM (N490247 E1110229). Los usos evaluados fueron: maíz; caña de azúcar; lechosa; pasto y bosque natural. A continuación se describen cada uno de ellos:

Uso – Maíz

Está ubicado en la estación experimental del INIA, localizada en la población de Yaritagua, municipio Peña, estado Yaracuy, en las coordenadas UTM-SAM (N490247 E1110229), el manejo de suelo fue intensivo, para lo cual se realizó un pase de big-rome, incorporación de abono, también se ejecutó un plan de fertilización con dosis N-P-K 100-50-50 kg/ha. Luego se hizo un control de maleza con 1,3 kg/Ha de atrazina y 70 kg/Ha de ACCEN. Se utilizó 1 Litro de lannate y para el control de los bachacos ATILAN.

Uso - Caña de Azúcar

Está ubicado en la estación experimental INIA, localizada en la población de Yaritagua, municipio Peña, estado Yaracuy en las coordenadas UTM-SAM (N490097 E1100041), esta 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, rastreado. Se realizó una aplicación de fertilizantes en los primeros meses del desarrollo del cultivo N-P-K (100-100-250) kg/ha.

Uso – Bosque Natural

Está ubicado en la estación experimental INIA, localizada en la población de Yaritagua, municipio Peña, estado Yaracuy 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, estado Yaracuy en las coordenadas UTM-SAM (N 495388 E1110005), este 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 le aplicó fungicidas y insecticidas.

Uso – Pasto. Ubicado en el municipio Peña, Estado Yaracuy en las coordenadas UTM-SAM (N 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.

Para el aislamiento de microorganismos de vida libre, bacterias fijadoras de nitrógeno (FNVL), solubilizadoras de fósforo (SF) estimuladoras del crecimiento vegetal, las muestras fueron colectadas en unidades de producción ubicadas en el Valle Medio del Rio Yaracuy, Municipio Peña del estado Yaracuy. Para el aislamiento fueron usados los medios Ashby para fijadoras de nitrógeno y Piroskaya para solubilizadoras de fósforo Según los métodos y procedimientos señalados por Martínez Viera *et al.*, (2006)

Pruebas de Promoción de Germinación de la Planta. Se realizó un recuento de las semillas germinadas en los tratamientos: testigo (sin inoculo), 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., 2007).

Análisis de los Resultados. Se realizó un análisis de varianza (ANAVAR) para determinar diferencias en los usos evaluados, en aquellas variables donde se detectaron diferencias significativas se realizaron pruebas de comparación de medias según Tukey, el valor de probabilidad fue ($P < 0.05$). El programa estadístico usado fue infostat version 2009. (Infostat ver. 2009).

RESULTADOS Y DISCUSION

En cada tipo de uso de las tierras, se aislaron cepas FNVL y SF. Se seleccionaron cinco cepas FNVL, las cuales fueron identificadas como la FN187, FN188, FN189, FN190 y FN191.1.

Cuadro 1. Cepas fijadoras de Nitrógeno seleccionadas.

TUT	Nº de Muestra	Nº 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
Pasto	FN 191.1	20	Borde regular, cremosa, brillante	Si

En cuanto al aislamiento de las cepas SF se tomaron también cinco cepas. Las cuales fueron identificadas como: SF187, SF188, SF189, SF190.1, SF191.

Cuadro 2. Cepas Solubilizadoras de Fósforo.

TUT	Nº de la Muestra	Nº de Colonia	Observación de la Morfología	Cepa seleccionada
Caña de azúcar	SF188	7	Borde regular, con buen halo, crema con el centro más oscuro	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, aplanada, grande	Si

Relación entre desarrollo de cepas y tipo de uso de tierra

Luego del aislamiento de las poblaciones bacterianas presentes en la rizosfera de los distintos tipos de uso de la tierra, se procedió al análisis de los resultados en función sobre el número de colonias formadas. En el Cuadro 1, se muestra un crecimiento de colonias FNVL superior al de las bacterias SF (cuadro 2), lo que indica que el uso con pasto y caña de azúcar promovió las poblaciones de bacterias FNVL, observándose mayor valor de números de colonias en uso-Pasto, ya que a pesar de no aplicarse materia orgánica, el tiempo de descanso mejoró sustancialmente las condiciones físicas del suelo, lo que posiblemente contribuyó a su desarrollo, además, la no aplicación de agroquímicos en éstos agroecosistemas también mejora el ambiente de las bacterias y por ende facilita su crecimiento. En cambio, el uso Lechosa manejado con planes de fertilización que incluían en especial el fósforo y la incorporación de materia orgánica mejoró la fertilidad del suelo, especialmente la acumulación de fósforo orgánico, condición que favorece el desarrollo de las colonias bacterianas solubilizadoras del elemento, contribuyendo a la disponibilidad del fósforo para los cultivos. Estos resultados indican que el tipo de manejo agrícola beneficia al crecimiento y desarrollo de las colonias solubilizadores de fósforo, como un mecanismo de la planta en interacción con los microorganismos que habitan en la rizósfera de los cultivos presentes para promover procesos biológicos que benefician tanto a las plantas como a la biota asociada en unas condiciones edafológicas y ambientales determinadas.

Pruebas de Bioestimulación

Una vez aisladas las cepas de la rizófera de los cultivos, se seleccionaron las que presentaron colonias (Cuadros 1,2) cuya morfología indicara potencial para preparar los biofertilizantes. En este sentido, las cepas utilizadas para los Biofertilizantes a base de FNVL fueron: FN 187, FN 190, FN 191 y las SF 187.1, SF 188.1, SF 191.1 para preparar los biofertilizantes a base de solubilizadores de fosforo. Estas cepas fueron evaluadas en pruebas de bioestimulación del crecimiento vegetal en condiciones de invernadero y posteriormente en campo. En este trabajo se presenta el efecto de los biofertilizantes FNVL y SF sobre la germinación de semillas de maíz y caraota en cámaras de germinación, los resultados obtenidos se presentan a continuación.

En el Cuadro 3, se observó un mayor incremento en el crecimiento radicular en todas las capsulas inoculadas con cepas de FNVL y SF en comparación al testigo. Diversos autores han manifestado la importancia de la inoculación de microorganismos para incrementar el crecimiento vegetal y mejorar la productividad agrícola, en tal sentido, Peña y Reyes (2007) al aislar e inocular cepas de rhizobium encontraron incrementos en el crecimiento de plántulas de lechuga, específicamente con las productoras de hormonas del crecimiento. Así mismo, Vera et al (2002) aislaron 18 hongos con capacidad de solubilizar fósforo no disponible, a partir de agregados de suelo de la rizósfera de *Eugenia stilapia*, encontrando incrementos en los rendimientos.

Los resultados obtenidos en la prueba de bioestimulación del crecimiento vegetal, muestran que los mayores crecimientos radiculares se observaron en las cápsulas con semillas de maíz (*Zea maíz*) inoculados con las cepas FN187 y FN 190 con valores estadísticamente superiores ($P > 0,05$) al resto de los tratamientos aplicados. La cepa FN 187 también estimuló el crecimiento vegetal en el cultivo de caraota *Phaseolus vulgaris*, al igual que la FNVL 191 respectivamente. Estos resultados obedecen a que las bacterias expresan su eficiencia de inoculación con un determinado material genético, por ello la necesidad de buscar la mayor compatibilidad cepa- cultivo y luego cepa-suelo-cultivo, ya que estos aspectos son determinantes en el éxito posterior al

aplicar los biofertilizantes en campo, tanto como bioestimuladoras del crecimiento vegetal como por su efectividad como fijadoras de nitrógeno atmosférico y solubilizadoras de fósforo. Las otras cepas aisladas no mostraron potencial para estimular el crecimiento vegetal en los cultivares de maíz y a evaluados. Landis (2000) señala que los niveles altos de nitrógeno promueven una rápida división y elongación celular, demostrándose así la importancia de la aplicación de éstas cepas para estimular el crecimiento de las plántulas.

Cuadro 3. Efecto de la inoculación con cepas FNVL y SF sobre la longitud (cm) de la radícula de plántulas de maíz

CEPA	Maíz	Caraota
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

Estos resultados coinciden con los reportados por López et al., (2008) que a partir de la inoculación de cepas FNVL observaron un incremento en los porcentajes de germinación de 52 a 75 % en las plantas inoculadas. Así mismo 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 vegetal en este cultivo.

Con respecto a las solubilizadoras de fósforo, las cepas más eficientes fueron la SF 188.1 y la SF 191.1 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 188.1.

CONCLUSIONES

Las cepas FNVL se desarrollaron mejor en aquellos manejos con bajos contenidos de materia orgánica o en donde se aplica un manejo intensivo, lo que significa, que las plantas en sinergia con microorganismos de la rizósfera promueven mecanismos y procesos biológicos para garantizar el flujo de materia y energía necesaria para la sustentabilidad del agroecosistema.

El desarrollo de bacterias SF se estimula en condiciones de manejo, suelo y clima que favorece la acumulación de fósforo, lo cual es un mecanismo del agroecosistema para hacer disponible el P a los cultivos a través de procesos biológicos.

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

BIBLIOGRAFIA

CONSTANTINO, M; GOMEZ-ALVAREZ, R; ALVAREZ-SOLIZ, J; FERNÁNDEZ, J; ESPIN, G. (2010). Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L. Effect of biofertilization and bioregulators on germination and growth of *Carica papaya* L. *Rev. colomb. Biotecnol* 12 (2):103-115

INFOSTAT. (2009). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 2009

KOLMANS, E.; D. VÁSQUEZ. (1995). Manual de Agricultura Ecológica. Movimiento Agroecológico de América Latina y el Caribe MAELA. Primera Edición, SIMAS, CICUTES – Managua, edit. Enlace. 222 p

LANDIS, T.D. (2000). Manual de viveros para la producción de especies forestales en contenedores. In Landis TD, RW Tinus, SE Mc Donald, JP Barnett. Manual Agrícola. Volumen 4. Washinton DC. US. Department of Agriculture, Forest Service p1-67.

LÓPEZ, M., R. MARTÍNEZ-VIERA, M. BROSSARD, A. BOLÍVAR A ALFONSO, A. ALBA, Y H. ABREO. (2008). Efecto de Biofertilizantes Bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de Maíz en dos suelos contrastantes venezolanos. *Agronomía Tropical* 58 (4): 391-401.

MARTÍNEZ-VIERA, R; LÓPEZ M; BROSSARD, M; TEJEDA, G; PEREIRA, H; PARRA, C; RODRÍGUEZ, S; ALBA, A. 2006. Procedimientos para el estudio y fabricación de Biofertilizantes Bacterianos. Maracay. Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 88 p. (Serie B. No 11)

MARTÍNEZ, V. R , LÓPEZ, M; DIBUT-ÁLVAREZ, B; PARRA, C; RODRÍGUEZ, J. (2007). La fijación biológica de nitrógeno atmosférico en condiciones tropicales. Ministerio del Poder Popular para la Agricultura. 172 p.

PEÑA H e I. REYES. (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): 560-564.

TORRES, D, M. APARICIO, M. LÓPEZ, J. CONTRERAS, e I. ACEVEDO. (2009). Impacto del tipo de uso de la tierra sobre propiedades del suelo en la depresión de Quíbor. *Agronomía Tropical*. 59(2): 207-217.

VERA, D; PÉREZ, H; VALENCIA, H. (2002). Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizosfera de arazas (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). *Acta Biológica Colombiana*. 7(1):33-40.