



**AISLAMIENTO DE BACTERIAS (FNVL Y SF) EN UN HAPLARGIDS
VENEZOLANO**

**ISOLATION OF BACTERIA (FNVL AND SF) IN A VENEZUELAN
HAPLARGIDS**

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS (FNVL E SF) EM UM HAPLARGIDS
VENEZUELANO**

1

Duilio Torres¹

duiliogtorres@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-5920-138X>

Recibido: 15/10/23

Aceptado: 15/11/23

Publicado: 29/12/23

Correspondencia: duiliogtorres@gmail.com

1. Ing. Agrónomo, MsC., Profesor Asociado, Investigador Suelos, Facultad de Ingeniería agronómica, Universidad Lisandro Alvarado Barquisimeto, Venezuela.



RESUMEN

Con la finalidad evaluar su potencial para ser utilizadas como biofertilizantes, a través de un bioensayo en invernadero con plántulas de tomate, se seleccionaron cepas bacterianas fijadoras de Nitrógeno de vida libre (FNVL) y solubilizadoras de Fósforo (SF), provenientes de la rizósfera de tres tipos de uso de la tierra en el sector “El Cebollal” del municipio Miranda del estado Falcón, se colectaron muestras de suelo en los diferentes tipos de uso de la tierra (TUT) como fueron: Sábila bajo manejo orgánico (TUT1), Melón manejado convencionalmente (TUT2) y el Bosque natural de la zona (TUT3), las cuales fueron procesadas para el aislamiento y selección de las cepas en el laboratorio de Biofertilizantes del INIA-Maracay. El TUT2 y TUT3, han afectado las poblaciones de bacterias FNVL, lo cual se debe a que en el TUT2 la salinidad es alta por el uso excesivo de fertilizantes químicos y agua de alto tenor salino, en el TUT3 el contenido de materia orgánica es alto pero con un tenor salino moderado comparado con el TUT1 en el cual se obtuvo mayor desarrollo de las cepas, así como también, el pH puede estar inhibiendo la solubilización, lo cual puede estar afectando los niveles de biomasa bacteriana, sin embargo las poblaciones de SF, fueron menos afectados por las condiciones adversas del medio, además presentaron óptimo desarrollo y excelente potencial para la elaboración de biofertilizantes, de acuerdo a los resultados obtenidos en el bioensayo, donde las variables: longitud de las raíces de las plántulas y número de plantas con la aparición de la primera hoja verdaderas a los siete días, arrojaron diferencias altamente significativas, por lo tanto concluimos que la cepa FNVL proveniente del TUT1 y todas las cepas SF evaluadas, presentan potencial para estimular el crecimiento vegetal, fijar Nitrógeno y solubilizar Fósforo, por tanto pueden ser seleccionadas para ser utilizadas como biofertilizantes.

Palabras clave: aridez, fertilidad, fosforo, nitrógeno, sostenibilidad.

ABSTRACT

In order to evaluate their potential to be used as biofertilizers, through a greenhouse bioassay with tomato seedlings, free-living Nitrogen-fixing (FNVL) and Phosphorus-solubilizing (SF) bacterial strains were selected from the rhizosphere of three types of land use in the “El Cebollal” sector of the Miranda municipality of Falcón state, soil samples were collected in the different types of land use (TUT) such as: Aloe vera under organic management (TUT1), Melon conventionally managed (TUT2) and the natural forest of the area (TUT3), which were processed for the isolation and selection of the strains in the Biofertilizers laboratory of the INIA-Maracay. TUT2 and TUT3 have affected the populations of FNVL bacteria, which is due to the fact that in TUT2 the salinity is high due to the excessive use of chemical fertilizers and water with a high saline content, in TUT3 the organic matter content is high. but with a moderate saline content compared to TUT1 in which greater development of the strains was obtained, as well as, the pH may be inhibiting solubilization, which may be affecting the levels of bacterial biomass, however the SF populations, were less affected by the adverse conditions of the environment, in addition they presented optimal development



and excellent potential for the production of biofertilizers, according to the results obtained in the bioassay, where the variables: length of the roots of the seedlings and number of plants with the appearance of the first true leaf at seven days, showed highly significant differences, therefore we conclude that the FNVL strain from TUT1 and all the SF strains evaluated, have the potential to stimulate plant growth, fix Nitrogen and solubilize Phosphorus, therefore both can be selected to be used as biofertilizers

Keywords: aridity, fertility, phosphorus, nitrogen, sustainability.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o potencial para serem utilizadas como biofertilizantes, por meio de um bioensaio em estufa com plântulas de tomate, foram selecionadas cepas bacterianas fixadoras de nitrogênio de vida livre (FNVL) e solubilizadoras de fósforo (SF), provenientes da rizosfera de três tipos de uso da terra no setor "El Cebollal" do município de Miranda, no estado de Falcón. Foram coletadas amostras de solo nos diferentes tipos de uso da terra (TUT), sendo eles: Aloe vera cultivado organicamente (TUT1), Melão cultivado convencionalmente (TUT2) e a Floresta natural da região (TUT3). As amostras foram processadas para o isolamento e seleção das cepas no laboratório de Biofertilizantes do INIA-Maracay. Os TUT2 e TUT3 afetaram as populações de bactérias FNVL, devido à salinidade elevada no TUT2 devido ao uso excessivo de fertilizantes químicos e água com alto teor salino. No TUT3, o conteúdo de matéria orgânica é elevado, mas com um teor salino moderado em comparação com o TUT1, onde houve maior desenvolvimento das cepas. Além disso, o pH pode estar inibindo a solubilização, afetando os níveis de biomassa bacteriana. No entanto, as populações de SF foram menos afetadas pelas condições adversas do meio, apresentando desenvolvimento ótimo e excelente potencial para a produção de biofertilizantes, de acordo com os resultados obtidos no bioensaio. As variáveis: comprimento das raízes das plântulas e número de plantas com a primeira folha verdadeira após sete dias, mostraram diferenças altamente significativas. Portanto, concluímos que a cepa FNVL proveniente do TUT1 e todas as cepas SF avaliadas apresentam potencial para estimular o crescimento vegetal, fixar nitrogênio e solubilizar fósforo, podendo ser selecionadas para uso como biofertilizantes.

Palavras-chave: aridez, fertilidade, fósforo, nitrogênio, sustentabilidade.

1. INTRODUCCIÓN

En Venezuela se adelantan acciones institucionales e interdisciplinarias dirigidas a redimensionar y reorientar las prácticas de manejo convencionales basadas en altos insumos, que incluyen altas aplicaciones de fertilizantes inorgánicos en los principales agrosistemas del país. Este manejo ha ocasionado degradación en todos los componentes del sistema (Rojas et al., 2019; Olivares et al., 2019; Mendoza et al., 2021; Ruiz y Paolini, 2021).



Actualmente se construye una plataforma biotecnológica dirigida a la producción de biofertilizantes Simbióticos y Asimbióticos. Entre estos últimos se encuentran los fijadores de Nitrógeno de vida libre y las solubilizadoras de Fósforo los cuales pudieran contribuir significativamente a suministrar Nitrógeno y Fósforo a cultivos altamente exigentes en estos elementos (Beltrán y Bernal, 2022; Jiménez et al., 2023).

El Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas se ha venido integrando con varias universidades y ahora con la Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda”, para dar comienzo a la producción a baja escala de Biofertilizantes a partir de los suelos de la serie “El Cebollal. Entre los inoculantes biológicos, los biofertilizantes son un componente vital de los sistemas sustentables, ya que constituyen un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable de reducir los insumos externos y de mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos (Çakmakçı , 2019; Florencio et al., 2022).

En este contexto, el objetivo del trabajo fue seleccionar cepas bacterianas fijadoras de Nitrógeno y solubilizadoras de Fósforo, de la rizósfera de tres tipos de uso de la tierra: sábila bajo manejo orgánico (TUT1), melón manejado convencionalmente (TUT2) y el bosque natural de la zona (TUT3). Los resultados mostraron que las cepas nativas utilizadas presentan potencial para estimular el crecimiento vegetal, fijar Nitrógeno y solubilizar Fósforo, por tanto, pueden ser seleccionadas para ser utilizadas como biofertilizantes.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Bacterias en el Suelo

El suelo alberga una gran diversidad de bacterias que cumplen funciones esenciales en este ecosistema. Se estima que en un gramo de suelo pueden existir miles de millones de células bacterianas, pertenecientes a miles de especies diferentes (Raynaud y Nunan, 2014, p. 1).

Las bacterias del suelo desempeñan un papel fundamental en los ciclos biogeoquímicos. Mediante procesos como la fijación de nitrógeno, nitrificación y desnitrificación regulan la disponibilidad de este nutriente para las plantas (Hayat et al., 2010, p. 515). Además, intervienen en la descomposición de la materia orgánica y liberación de nutrientes (Paul, 2015, p. 71).

Otras funciones bacterianas relevantes son la promoción del crecimiento vegetal, la degradación de contaminantes y la protección de plantas contra fitopatógenos. La estructura y diversidad de las comunidades bacterianas en el suelo se ven afectadas por factores como pH, contenido de materia orgánica, humedad y prácticas agrícolas (Chaparro et al., 2012, p. 204)."



2.2. Metodologías de Aislamiento

El aislamiento de bacterias del suelo permite estudiar su diversidad, fisiología y funciones. Existen diversas metodologías para aislar bacterias a partir de muestras de suelo. El método más común es el cultivo en medio sólido, que implica inocular diluciones del suelo en agar nutritivo y esperar el desarrollo de colonias (Stevenson et al., 2004, p. 1).

Otros métodos incluyen el empleo de trampas, como perlas de alginato que contienen sustratos atrayentes (Bollmann et al., 2010, p. 663), o medios difusivos que generan gradientes de oxígeno y nutrientes (Ferrari et al., 2005, p. 115).

También se utilizan técnicas dependientes de microscopía, como el aislamiento por micromanipulación con pinzas ópticas o capilares de vidrio (Zhang et al., 2006, p. 90). Además, se emplean sistemas de cultivo en celdas individuales o compartimentos (Ingham et al., 2007, p. 665).

La elección del método depende del tipo de bacteria que se quiere aislar y los recursos disponibles. El avance en técnicas de microfluídica y microencapsulación ofrece nuevas alternativas para el aislamiento de bacterias previamente no cultivables (Kim et al., 2008, p. 961)."

2.3. Aspectos Microbiológicos Específicos

Entre los principales grupos bacterianos presentes en el suelo se encuentran Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes y Firmicutes (Fierer, 2017, p. 418). Actinobacteria son relevantes en la descomposición de materia orgánica, mientras que Proteobacteria incluyen bacterias fijadoras de nitrógeno y promotores del crecimiento vegetal (Van Elsas et al., 2006, p. 262).

La diversidad bacteriana en el suelo está influenciada por las propiedades edáficas. Los suelos ácidos favorecen a Acidobacteria, mientras que en suelos alcalinos predominan Actinobacteria y Firmicutes (Lauber et al., 2009, p. 1694). La humedad y temperatura también modulan las comunidades bacterianas (Xiong et al., 2012, p. 10).

Las bacterias del suelo presentan adaptaciones fisiológicas como la formación de endosporas para resistir condiciones adversas y movilidad para colonizar nuevos nichos (Van Elsas et al., 2006, p. 263). Además, se comunican mediante sistemas de quorum sensing para coordinar comportamientos colectivos (Papenfort & Bassler, 2016, p. 1).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del ensayo

El estudio se llevó a cabo en las unidades de producción Pizca (procesadora industrial de zabila, C.A) y en la finca Santa María, ubicadas en la serie el Patillal



del sector El Cebollal en la planicie de Coro, estado Falcón ubicada entre 12° 55' y 12° 57' N.

3.2. Caracterización de la zona de estudio

El sector “El Cebollal”, está ubicado entre las Parroquias Santa Ana y San Antonio del Municipio Miranda, Estado Falcón. Abarca una superficie aproximada de 5.836 ha. La zona presenta una precipitación media anual de 450 mm, una evaporación de 3200 mm de promedio anual, temperatura de 27,7 °C y humedad relativa de 74 %, en promedio, con suelos alcalinos, del orden aridisol.

6

3.3. Recolección de las muestras

La metodología utilizada en la toma de muestras de suelo en campo fue la descrita por Martínez et al(2009) Las muestras fueron colectadas en las unidades de producción Pizca (procesadora industrial de zabila, C.A) donde se muestrearon los tipos de uso de la tierra (TUT): TUT1 (Sábila) bajo uso orgánico y TUT3 (Bosque natural), y en la finca Santa María, donde se muestreo TUT2 (Melón), ubicadas ambas unidades de producción en la serie el Patillal del Cebollal, Municipio Miranda del estado Falcón. Se colecto 1 Kg. de suelo en siete puntos diferentes de cada tipo de uso a una profundidad de 0-15 centímetros en la zona próxima a las raíces (zona rizosférica), cuyos cultivos se encontraban en un 50 % de floración.

3.4. Manejo de las muestras

Las muestras colectadas se mezclaron para obtener muestras compuestas de cada tipo de uso y se secaron al aire para retirar el exceso de humedad, luego se pasaron por un tamiz N° 10, de allí se separaron 50 gramos que fueron colocados en un frasco con tapa, previamente esterilizado y se llevaron al laboratorio de biofertilizantes del INIA-CENIAT (Maracay), para aislar los microorganismos (Cepas) y hacer las evaluaciones correspondientes.

3.5. Caracterización del suelo

Luego se tomaron 900 gramos a los cuales se les realizó la caracterización química y física. Textura: distribución y tamaño de la partícula (Bouyoucos); pH (Relación suelo agua: 1: 2,5); Fósforo (Olsen); Potasio (Olsen); Calcio (Morgan); Materia orgánica (Combustión humedad, Walkey y Black modificado); y CE (Conductímetro).

3.6. Aislamiento de microorganismos

Aproximadamente 50 gramos del suelo muestreado en la rizosfera de cada TUT evaluado fue llevado al laboratorio de biofertilizantes del INIA-CENIAT (Maracay) para realizar los aislamientos correspondientes, utilizando la metodología propuesta por Martínez et al., (2006). Se pesó 1 gramo de suelo colectado de la rizosfera de cada uno de los TUT seleccionados, luego se



realizaron diluciones hasta 10⁻⁶, de esta última dilución se tomó 0,1 ml y se extendió en cajas de petri con medio de cultivo Ashby (figura 2), a los 5 días se contaron las colonias y se realizó aislamiento de las colonias seleccionadas en tubos de ensayo inclinados con el mismo medio de cultivo. Se pesó 1 gramo de suelo rizosférico de cada TUT, se suspendió en agua estéril y se realizó diluciones hasta 10⁻⁶ luego se extendió 0,1 ml en cajas petri conteniendo medio de cultivo Pikovskaya y se incubó durante 5 días, posteriormente se aislaron las colonias.

3.7. Preparación de biofertilizantes

Las cepas aisladas fueron utilizadas para preparar el biofertilizante (pre-inoculo) posterior a la incubación en inclinados del medio. Se realizaron diluciones partiendo de 1 gr de suelo de cada una de las muestras (TUT1-TUT2-TUT3), hasta obtener una dilución 1/10, se completó con 99 ml de agua estéril contenidos en una fiola de 250ml, esta mezcla se agito durante 21 minutos, luego se llevó a la campana de flujo laminar, allí asépticamente se pasó 1 ml de la mezcla a un primer tubo que contenían 9 ml de agua, consecutivamente hasta que obtuvimos la dilución 10⁻⁶. Una vez realizado este proceso se tomo 0,1 ml de los tubos con las diluciones 10⁻⁵ y 10⁻⁶, el cual fue esparcido en capsulas de petri con medio Ashby para FNLV y Pikovskaya para SF.

3.8. Conteo de microorganismos

Se realizaron tres repeticiones de cada muestra por dilución y fueron incubadas durante 5 días a 31°C. Luego se realizó el conteo de colonias partiendo de la siguiente fórmula:

$$X = \sum_{dil} (10^{-5}) = X * 10^{-6} \text{ UFC/ml}; X = \sum_{dil} (10^{-6}) = X * 10^{-7} \text{ UFC/ml}$$

Para la selección de las cepas se tomó como criterio en el caso de las bacterias SF, aquellas que presentaron halo visible y bien diferenciado, lo cual es indicador de su capacidad para solubilizar fósforo. En el caso de bacterias FNLV, se seleccionaron aquellas que evidenciaron su característica específica, similar a una gota de agua fija en el medio de cultivo. El preinoculo se preparó a partir de las cepas FN y SF previamente aisladas en los medios Ashby y Pikovskaya respectivamente. sembradas en medios de cultivo 48 horas antes de ser utilizadas. Se trabajó con una relación Vf/Vm de 10:1. Donde Vf = volumen del frasco y Vm =volumen del medio, siguiendo las recomendaciones sugeridas por Martínez et al., (2006).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se presentan las variables químicas, donde se observó que los mejores valores de materia orgánica se presentaron en el uso TUT-3 esto puede obedecer al aporte de estiércol por los animales de la zona, en el caso del uso TUT-2 fue un poco más alto que en el uso TUT-1 esto puede obedecer al aporte de la hojarasca y restos de cosecha, mientras que en el caso del uso TUT-1 a pesar de ser fertilizado con residuos orgánicos provenientes del cultivo y estiércol



de la zona, lo cual ayuda a mantener altos niveles de materia orgánica, se reportaron valores más bajos; esto puede deberse a que son suelos más arenosos.

Tabla 1. Variables físico-químicas de los suelos bajo diferentes tipos de usos de la tierra de la serie El Patillal.

Característica	TUT-1 (Sábila)	TUT-2 (Melón)	TUT-3 (Bosque natural)
Arena (%)	86	56	56
Limo (%)	10	22	32
Arcilla (%)	4	22	12
Textura	aF	FAa	Fa
C.E (dS/ m)	0,04	0,66	0,11
pH	8,4	7,1	8,3
P disponible (mg/kg)	10	22	11
K (mg/kg)	93	186	130
Ca (mg/kg)	515	1082	1008
Mg (mg/kg)	96	124	168

En la tabla 2 se muestran los resultados sobre la cantidad de colonias obtenidas y el efecto del tipo de uso de la tierra sobre las poblaciones de microorganismos de vida libre fijadores de nitrógeno y solubizadores de fósforo (Tabla 3), en primer lugar el número de colonias bacterianas fijadoras de Nitrógeno fue superior en sábila a una dilución de 10⁻⁵, mientras que la menores colonias de bacterias fijadoras de nitrógeno fueron reportadas en el TUT3 (Bosque natural).

Esto debido a que en el TUT1 (Sábila) se encuentran suelos menos arcillosos manejados de una manera más orgánica, son suelos donde se aplican altos contenido de materia orgánica, por lo tanto esto influye en las poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno son mayores, por lo que cabe destacar en el TUT2 (Melón), la salinidad es un poco más alta por el uso excesivo de agua de alto tenor salino (fertilizantes químicos) y en el TUT3 (Bosque natural) el contenido de materia orgánica es alto pero es un poco salino comparado con el TUT1.

Contreras et al., (2021) señalan que mientras los ecosistemas están más cercanos al ecuador acumulan más carbono en la biomasa vegetal (siempre que haya una pluviometría favorable), la excepción la constituyen aquellas áreas o regiones donde la lluvia es escasa, característica típica de la zona del estado Falcón y esto les ha impedido recuperarse, lo que nos lleva a deducir que las poblaciones de bacterias fijadoras de Nitrógeno son menores puesto que estas condiciones no favorecen su desarrollo.

Cabe destacar que el mayor número de colonias FNVL correspondieron al uso sábila el cual presentó valores óptimos de fósforo y los más bajos en potasio, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Alvarez et al., (2021) quienes



señalan que la multiplicación de las bacterias FNVL en el suelo depende en gran medida de la disponibilidad de Fósforo y Potasio, indicando que deficiencia de estos elementos reduce los niveles de biomasa bacteriana y, en consecuencia, disminuye la fijación de Nitrógeno.

Esto comienza cuando la concentración de Fósforo en el medio es de 0.004% y se inhibe cuando alcanza 0.8%, y para el Potasio, las cantidades necesarias son menores y en altas cantidades afectan la biomasa (Jiménez et al., 2022); no obstante un hecho que hay que resaltar es que en los TUT2 y TUT3 los valores de P se encuentran dentro del rango, aun así el pH por ser alcalino puede estar inhibiendo la solubilización y por lo tanto las poblaciones de microorganismos son menores; sin embargo los valores de Potasio son mucho más elevados, lo cual puede estar afectando los niveles de biomasa bacteriana.

Tabla 2. Cantidad de Cepas Fijadoras de Nitrógeno obtenidas en el medio de cultivo ASHBY.

Tipo de uso	Medio de cultivo	Dilución	Repetición	Población (+, ++, +++)
Sabila	Ashby	10 ⁻⁵	R1	++
			R2	++
			R3	+++
		10 ⁻⁶	R1	-
			R2	-
			R3	-
Bosque natural	Ashby	10 ⁻⁵	R1	+++
			R2	+
			R3	++
		10 ⁻⁶	R1	+
			R2	-
			R3	-
Melón	Ashby	10 ⁻⁵	R1	++
			R2	+++
			R3	+
		10 ⁻⁶	R1	++
			R2	-
			R3	-

Según lo observado en la tabla 3, las poblaciones de bacterias solubilizadoras de Fósforo son mayor en el TUT1 (Sábila) , esto podría deberse a lo explicado anteriormente, sin embargo en los TUT2 (Melón) y TUT3 (Bosque natural) las poblaciones de bacterias solubilizadoras de Fósforo, no son tan bajas; es decir

presentan desarrollo óptimo para preparar el preinoculo, lo cual se debe a que este tipo de microorganismo son más resistentes a estas condiciones comparado con las bacterias fijadoras de Nitrógeno, lo cual concuerda con lo señalado por Mora et al., (2021), quienes encontraron que las poblaciones de bacterias solubilizadoras de Fósforo fueron siempre superiores a las poblaciones de bacterias fijadoras de Nitrógeno, inclusive en condiciones adversas para el desarrollo físico de los cultivos y altos valores de salinidad (Corrales et al., 2020), esto ratifica la afirmación de que el desarrollo de los solubilizadores de Fósforo es menos afectado por las condiciones adversas del medio como son los problemas físicos y químicos así como las constantes aplicaciones de agroquímico.

Tabla 3. Cantidad de Cepas Solubilizadoras de Fósforo obtenidas en el medio de cultivo PIKOVSKAYA.

Tipo de uso	Medio de cultivo	Dilución	Repetición	Población (+, ++, +++)
Sabila	Pikovskaya	10 ⁻⁵	R1	+++
			R2	+++
			R3	++
		10 ⁻⁶	R1	-
			R2	-
			R3	-
Bosque natural	Pikovskaya	10 ⁻⁵	R1	+++
			R2	+
			R3	++
		10 ⁻⁶	R1	++
			R2	-
			R3	-
Melón	Pikovskaya	10 ⁻⁵	R1	++
			R2	+++
			R3	+
		10 ⁻⁶	R1	-
			R2	+
			R3	+

5. CONCLUSIONES

Los tipos de uso de la tierra Melón y Bosque Natural utilizados presentaron muy bajas cantidades de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias fijadoras de Nitrógeno, lo cual se debe a que estos suelos presentan características físico químicas poco favorables para el desarrollo de estos microorganismos.

Las bacterias solubilizadoras de fosforo fueron menos afectadas por las condiciones adversas de clima y suelo presentes en la zona, como la aridez y los



altos valores de salinidad, lo que resulta promisorio para la promoción de prácticas agrícolas en suelos de zonas áridas y semiáridas, donde como consecuencia del cambio climático, avanzan los procesos de degradación de tierras y desertificación.

Las cepas nativas utilizadas presentan potencial para estimular el crecimiento vegetal, fijar Nitrógeno y solubilizar Fósforo, por tanto, pueden ser seleccionadas para ser utilizadas como biofertilizantes, lo cual ayudaría a minimizar el impacto ambiental negativo producido por el uso de fertilizantes químicos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Álvarez-González, A., Martín-Alonso, G. M., Mejía-Franco, L. C., López-Vdovenko, E., & Rodríguez-Yon, Y. (2021). Algunas propiedades físicas, químicas y microbiológicas de un suelo agrícola en Darién, República de Panamá. *Cultivos Tropicales*, 42(4).

Beltrán-Pineda, M. E., & Bernal-Figueroa, A. A. (2022). Biofertilizantes: alternativa biotecnológica para los agroecosistemas. *Revista Mutis*, 12(1).

Bollmann, A., Lewis, K., & Epstein, S. S. (2010). Incubation of environmental samples in a diffusion chamber increases the diversity of recovered isolates. *Applied and environmental microbiology*, 76(18), 6386-6390.

Çakmakçı, R. (2019). A review of biological fertilizers current use, new approaches, and future perspectives. *International Journal of Innovative Studies in Sciences and Engineering Technology*, 5(7), 83-92.

Chaparro, J. M., Sheflin, A. M., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2012). Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biology and Fertility of Soils*, 48(5), 489-499.

Contreras-Santos, J. L., Martínez-Atencia, J., Raghavan, B., López-Rebolledo, L., & Garrido-Pineda, J. (2021). Sistemas silvopastoriles: mitigación de gases de efecto invernadero, bosque seco tropical-Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 901-919.

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.

Ferrari, B. C., Winsley, T., Gillings, M., & Binnerup, S. (2008). Cultivating previously uncultured soil bacteria using a soil substrate membrane system. *Nature protocols*, 3(8), 1261-1269.

Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), 579-590.



- Florencio, C., Bortoletto-Santos, R., Favaro, C. P., Brondi, M. G., Velloso, C. C., Klaic, R., ... & Mattoso, L. H. (2022). Avanços na produção e formulação de inoculantes microbianos visando uma agricultura mais sustentável. *Química Nova*, 45, 1133-1145.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., & Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579-598.
- Ingham, C. J., Sprenkels, A., Bomer, J., Molenaar, D., van den Berg, A., van Hylckama Vlieg, J. E., & de Vos, W. M. (2007). The micro-Petri dish, a million-well growth chip for the culture and high-throughput screening of microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(46), 18217-18222.
- Jiménez, M. A., González, L. C., de Mello Prado, R., & Selva, E. R. P. (2022). Fuentes de Fósforo (p) más Cachaza con y sin Azotofos sobre los microorganismos del suelo. *Revista Científica Agroecosistemas*, 10(1), 65-69.
- Jimenez, B., Rodríguez, N., & López, M. (2023). Aislamiento, selección y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosforo en un aridisol tropical. *Ciencia inteligente*, 1(1), 1-18.
- Kim, J., Hegde, M., Kim, S. H., Wood, T. K., & Jayaraman, A. (2012). A microfluidic device for high throughput bacterial biofilm studies. *Lab on a Chip*, 12(6), 1157-1163.
- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R. & Fierer, N. (2009). Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(15), 5111-5120.
- Martínez, R; M. López; M. Brossard; G. Tejada; H. Pereira; C. Parra; S. Rodríguez y A. Alba. 2006. Procedimientos para el estudio y fabricación de Biofertilizante Bacterianos. Maracay. Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 88 p. (Serie B No 11).
- Mendoza-Escalona, B., Torres-Rodríguez, D., Marcó, L. M., Gómez, C., Estanga-Barrios, M., & García-Orellana, Y. (2021). Concentración de metales pesados en suelos agrícolas bajo diferentes sistemas de labranza. *Tecnológicas*, 24(51), 4-15.
- Mora-Quillismal, S. R., Cuaical-Galárraga, E. T., García-Bolívar, J., Revelo-Ruales, V. W., Puetate-Mejía, L. M., Aguila-Alcantara, E., & Ruiz-Sánchez, M. (2021). Biofertilización con bacterias solubilizadoras de fósforo y hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo de la papa. *Cultivos Tropicales*, 42(2).



- Olivares-Campos, B. O., López-Beltrán, M. A., & Lobo-Luján, D. (2019). Cambios de usos de suelo y vegetación en la comunidad agraria Kashaama, Anzoátegui, Venezuela: 2001-2013. *Revista Geográfica de América Central*, (63), 224-246.
- Paul, E. A. (Ed.). (2015). *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Academic press.
- Papenfort, K., & Bassler, B. L. (2016). Quorum sensing signal–response systems in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 576-588.
- Raynaud, X., & Nunan, N. (2014). Spatial ecology of bacteria at the microscale in soil. *PLoS One*, 9(1), e87217.
- Rojas-Fernández, J. A., Benítez-Díaz, P. R., Rivas-Rojas, E. A., & Miranda-Contreras, L. (2019). Residuos de plaguicidas en suelos de uso agrícola y riesgo de exposición en la microcuenca Los Zarzales, municipio Rivas Dávila, estado Mérida, Venezuela. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 35(2), 307-315.
- Ruiz-Dager, M., & Paolini, J. (2021). Indicadores biológicos de suelos lacustres y aluviales de Venezuela bajo diferentes usos. Parte 1. Actividad microbiana y coeficientes ecofisiológicos. *Terra Latinoamericana*, 39.
- Stevenson, B. S., Eichorst, S. A., Wertz, J. T., Schmidt, T. M., & Breznak, J. A. (2004). New strategies for cultivation and detection of previously uncultured microbes. *Applied and environmental microbiology*, 70(8), 4748-4755.
- Van Elsas, J.D., Costa, R., Jansson, J., Sjöling, S., Bailey, M., Nalin, R. et al. (2008). The metagenomics of disease-suppressive soils – Experiences from the METACONTROL project. *Trends in Biotechnology*, 26(11), 591-601.
- Xiong, J., Liu, Y., Lin, X., Zhang, H., Zeng, J., Hou, J., ... & Huang, S. (2012). Geographic distance and pH drive bacterial distribution in alkaline lake sediments across Tibetan Plateau. *Environmental microbiology*, 14(9), 2457-2466.
- Zhang, Y., Li, C., Zhang, S., Lu, Y., Zhang, J., & Zhang, C. (2006). Isolating and identifying freshwater bacterioplankton using phenotypic analysis and direct cell sorting by flow cytometry. *Journal of microbiological methods*, 64(1), 88-95.