

EVALUACION DE CEPAS DE AZOTOBACTER SPP. EN EL CULTIVO DE LECHUGA (*Lactuca sativa* var. Green Salad Bowl). TUMBACO, PICHINCHA¹.

Luis Vélez B.², Hugo Orellana A.³

Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas.

RESUMEN

En el laboratorio e invernadero de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central, ubicados en Tumbaco, Pichincha a 2460 msnm, se evaluó el efecto de 10 cepas de *Azotobacter*, para promover el crecimiento del cultivo de lechuga. Las variables estudiadas fueron: altura de la planta, diámetro del follaje, peso de la planta en la cosecha. Cada cepa fue inoculada en dos concentraciones: 30×10^6 y 3×10^6 de ufc/ml. Para interpretar los resultados, se utilizó el diseño experimental Completamente al Azar con un arreglo factorial $10 \times 2 \times 4$ con diez observaciones. La unidad experimental estuvo constituida por una planta desarrollada en una funda de plástico conteniendo 2.7 kg de un sustrato esterilizado y compuesto en partes iguales por tierra, humus y pomina.

La bacteria (c1 Chapuel, c2 Cotacachi, c3 Aloag, c4 Machachi, c5 Tumbaco, c6 Latacunga, c7 Izamba, c8 Chambo, c9 Chunchi, c10 Colta) son *Azotobacter chroococum*, en base principalmente a sus características morfológicas y a la presencia de enzimas catalasa, oxidasa, ureasa, amilasa y a la utilización del citrato como fuente de carbono. En cuanto al efecto promotor de crecimiento, las cepas que sobresalieron en todos los parámetros evaluados fueron en su respectivo orden: “c1” (Chapuel-Carchi), “c2” (Cotacachi-Imbabura) y “c5” (Tumbaco– Pichincha). De manera general, la concentración de bacterias no influyó en el efecto de ninguna de las evaluaciones. El mayor rendimiento lo presentó la interacción “c1d1” (Chapuel-Carchi en su mayor concentración), con un rendimiento de 177 gramos/planta.

Descriptor: *Azotobacter*, *Rizosfera*, *Biofertilización*, *Diluciones*, *Enzimas*.

INTRODUCCION

Para incrementar los rendimientos de los cultivos se fertilizan con productos sintéticos. Esta práctica es cuestionada, debido a los altos costos de producción, y a su efecto negativo en la salud de los seres vivos y a la contaminación de suelo y agua. Por esta razón es importante buscar alternativas biológicas de fertilización que procuren un sistema agrícola sustentable y precisamente entre los microorganismos del suelo se encuentran aquellos que promueven el crecimiento de las plantas, cumpliendo funciones específicas en los ciclos biológicos de la naturaleza, en la dotación de sus stancias reguladoras de crecimiento y en la solubilización de algunos nutrientes (Orellana, 2008). Dentro de los microbios mutualísticos ha sido ampliamente estudiada la bacteria fijadora de nitrógeno *Rhizobium*; sin embargo, se está impulsando la investigación de otros géneros asociativos que han demostrado repetidamente su efecto beneficioso, dentro de los cuales, se destaca el género *Azotobacter*, tanto por fijar nitrógeno como por su excreción de sustancias promotoras de crecimiento y su acción degradativa de pesticidas (González-López, 1986). La presente investigación tuvo como objetivos: evaluar el efecto promotor de crecimiento de *Azotobacter*, en el cultivo de lechuga y conformar un banco de germoplasma de la bacteria *Azotobacter*.

¹ Resumen de Tesis de Grado previa la obtención del título de Ingeniero Agrónomo

² Técnico desarrollista de SOLAGRO SA. hernan85velez@gmail.com

³ Director de Tesis. hugore@interactive.net.ec. Profesor de Microbiología y Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador.

MATERIALES Y METODOS

La presente investigación se realizó en el laboratorio e invernadero del Campo Académico Docente Experimental “La Tola”, CADET, de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador. Se evaluaron diez cepas de *Azotobacter* recolectadas en las siguientes provincias: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo.

Para realizar el aislamiento, se empleó la técnica de siembra de gránulos de suelo, colocando a 20 de ellos sobre la superficie de medio de cultivo “Ashby”, específico para el desarrollo de *Azotobacter*, tal como lo recomiendan. Los aislamientos se incubaron a 30 °C durante tres días, hasta observar colonias bacterianas. Para purificación de la bacteria, las colonias obtenidas en el aislamiento primario se resembraron en el medio “Ashby”. Para el efecto, se rayó el medio con una suspensión de esporas obtenidas en el aislamiento primario. Los aislamientos se incubaron a 30 °C durante tres días, hasta obtener las colonias translúcidas y mucilaginosas, típicas de *Azotobacter*, tal como las describe (Aquilanti, 2004).

Las cepas de *Azotobacter* se cultivaron en medio “Ashby” con 3 días de anticipación. Para las inoculaciones, cada cepa se suspendieron en agua destilada esterilizada y ajustó a dos concentraciones 3×10^7 ufc/ml y 3×10^6 ufc/ml. Las concentraciones a inocularse se obtuvieron mediante la escala de McFarlan. La bacteria se incorporó tres veces: la primera antes de la siembra se inoculó a la semilla, sumergiéndola en una solución azucarada al 25%, con el objeto que las bacterias quede adherida, la segunda incorporando la bacteria en el suelo tres días después de la siembra y la última, también incorporando la bacteria en el suelo, 30 días después de la siembra, vertiendo 10 ml de inoculó bacteriano por unidad experimental y procurando que contacte al sistema radical. El Testigo con la bacteria comercial (adicional 4), se sometió a dos aplicaciones: la primera al transplante y la segunda 30 días después. Esta aplicación se realizó con bomba de mochila, aplicando 8 ml de la dilución por planta/suelo (Caicedo, 2003).

Cada planta se consideró una unidad experimental, se desarrolló en un sustrato esterilizado (sometido a una temperatura de 90 °C por un periodo de 8 horas), luego se llenó en funda plástica de 3000 cm³ de capacidad. El sustrato estuvo constituido por 40% tierra de zanja, 30% humus y 30% de pómida. Antes del transplante, el sustrato se regó hasta el nivel de capacidad de campo, dispensando 300 ml de agua y dejándolo reposar por 24 horas. Los riegos se realizaron diariamente vertiendo 50 ml de agua por la mañana y 50 ml en la tarde el agua fue previamente sometida a un proceso de destilación y esterilización.

Para estimar el comportamiento de las bacterias, se compararon los resultados de los tratamientos con los de un testigo absoluto, con los de un testigo más abono foliar, con los de un testigo con *Azotobacter*, más abono foliar y con los de una cepa industrial.

Para determinar la influencia de la bacteria, se estudiaron las siguientes variables: altura de la planta, diámetro del follaje y peso de la planta en la cosecha. Para analizar los resultados estadísticamente, se utilizó un Diseño Completamente al Azar con un arreglo factorial $10 \times 2 + 4$, con diez observaciones.

Cuadro 1. Tratamientos planificados para evaluar el comportamiento de las dosis utilizadas en cada una de las cepas de *Azotobacter* en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*, var. green salad bow l), Tumbaco, Pichincha.

Tratamientos	Codificación	Descripción
t1	c1d1	Cepa Carchi en dilución 1
t2	c1d2	Cepa Carchi en dilución 2
t3	c2d1	Cepa Imbabura en dilución 1
t4	c2d2	Cepa Imbabura en dilución 2
t5	c3d1	Cepa Pichincha Aloag en dilución 1
t6	c3d2	Cepa Pichincha Aloag en dilución 2
t7	c4d1	Cepa Pichincha Machachi en dilución 1
t8	c4d2	Cepa Pichincha Machachi en dilución 2
t9	c5d1	Cepa Pichincha CADET en dilución 1
t10	c5d2	Cepa Pichincha CADET en dilución 2
t11	c6d1	Cepa Cotopaxi en dilución 1
t12	c6d2	Cepa Cotopaxi en dilución 2
t13	c7d1	Cepa Tungurahua en dilución 1
t14	c7d2	Cepa Tungurahua en dilución 2
t15	c8d1	Cepa Chimborazo Chambo en dilución 1
t16	c8d2	Cepa Chimborazo Chambo en dilución 2
t17	c9d1	Cepa Chimborazo Chunchi en dilución 1
t18	c9d2	Cepa Chimborazo Chunchi en dilución 2
t19	c10d1	Cepa Colta en dilución 1
t20	c10d2	Cepa Colta en dilución 2
t21	Testigo 1	Testigo absoluto
t22	Testigo 2	Testigo sin <i>Azotobacter spp</i> y con abono foliar.
t23	Testigo 3	Cepa CADET en dilución 2 + abono foliar
t24	Testigo 4	Testigo Cepa INDUSTRIAL. (15cc/litro)

RESULTADOS Y DISCUSION

Identificación de la bacteria

La bacteria se identificó a nivel de género con base a sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, utilizando el medio “Ashby”. Para determinar la especie, se empleó el medio “Agar Almidón” puesto que este microorganismo en medios sin nitrógeno es semitransparente a las 24 horas de cultivo, transformándose en marrón oscuro tras 48 horas de incubación a 28 ° C en aerobiosis. Las características morfológicas y bioquímicas de esta bacteria son las siguientes: es un bacilo Gram negativo con extremos redondeados y un tamaño de 1,1 por 3,7 mm durante la fase exponencial de crecimiento, es móvil por flagelos peritricos, hidroliza el almidón. Este microorganismo produce quistes en medios libres de nitrógeno. Esta especie es capaz de fijar nitrógeno atmosférico en aerobiosis, siendo sus márgenes de pH de 6,4 a 9. Este microorganismo ha sido clasificado según el Bergey Manual of determinative Bacteriology como *Azotobacter chroococcum*.

Identificación de la especie

Adicionalmente, las colonias se caracterizaron por presentar un pigmento marrón oscuro, que es una característica de las especies *Azotobacter chroococcum*, *A. nigricans* y *A. armenicus*, tal cual lo indica Torres (2000). Igualmente, de acuerdo a las pruebas bioquímicas, la bacteria posee las enzimas: catalasa, oxidasa, ureasa, amilasa, utiliza al citrato como fuente de carbono y es Gram negativa. Estas propiedades son reportadas por (Jiménez, 2007), como pertenecientes a la especie *Azotobacter chroococcum*.

Cuadro 2. Caracterización bioquímica de los aislamientos de *Azotobacter* realizados a diez cepas de diferentes suelos hortícolas en los cuales se cultivo lechuga. Tumbaco, Pichincha.

Cepas	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indol	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
Ureasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Starch	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Formación de quistes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tinción Gran.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

C₁= Carchi; C₂= Imbabura; C₃= Pichincha (Aloag); C₄= Pichincha (Machachi); C₅= Pichincha (CADET); C₆= Cotopaxi; C₇= Tungurahua; C₈= Chimborazo (Chambo); C₉= Chimborazo (Chimbo); C₁₀= Chimborazo (Colta).

Altura de la planta

En el (Cuadro 2) se observa alta significación para los tratamientos; y, consecuentemente, al origen de las cepas, sin importar la dilución o dosis, cuyas acciones fueron parecidas y aparentemente no influenciaron en el desarrollo vegetativo. De igual manera, se registraron diferencias al nivel del 1% en las pruebas ortogonales, cuando se compararon las alturas de las plantas menos desarrolladas "cepa 1" y "cepa 3", versus el resto de cepas. De este modo, en las interacciones (Gráfico, 1), la que más se destacó la interacción "c5d1" (Tumbaco, Pichincha en dilución 1), que alcanzó la mayor altura con un promedio de 20.60 cm. Por otro lado, la interacción menos influyente resultó ser: "c3d2" (Aloag, Pichincha en dilución 2), que alcanzó la menor altura con un promedio de 18.15 cm. Estos resultados reflejan el comportamiento diferencial entre las interacciones a pesar de no haber existido diferencia significativa para diluciones.

Cuadro 3. ANAVA para tres variables, en el estudio de diluciones de *Azotobacter* en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* var. Green Salad Bowl). Tumbaco, Pichincha.

Fuente de variación	Grados de libertad	Altura de planta	Diámetro de planta	Peso de planta
Total	239			
Tratamientos	23	3.40 **	16.16 **	6040.44 **
Cepas	9	4.48 **	22.52 **	8016.89**
Diluciones	1	0.01 ^{ns}	0.4 ^{ns}	1624.50 ^{ns}
CXD	9	3.94 **	10.72 ^{ns}	2995.70**
Adicionales	3	0.79 ^{ns}	10.08 ^{ns}	197.89 ^{ns}
F. vs. A.	1	0.05 ^{ns}	41.81 *	37598.64**
Error Experimental	216	1.18	6.23	829.77

Promedio	19.39 cm.	35.48 cm.	135.37 gramos
Coefficiente de variación	5.61 %	7.03 %	21.28 %

Cuadro 4. Promedios y pruebas de significación para analizar el efecto de la planta en el estudio de diluciones de cepas de *Azotobacter* en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* var. Green Salad Bowl). Tumbaco, Pichincha.

Cepas (1)	Altura de planta (cm)	Tratamientos (1)	Altura de planta (cm)
c7	19.95 a	c5d1	20.60 a
c9	19.88 a	c6d2	20.35 a b
c5	19.68 a	c7d1	20.10 a b c
c6	19.65 a	c9d2	19.95 a b c d
c8	19.65 a	c7d2	19.80 a b c d
c4	19.45 a b	c8d2	19.80 a b c d
c10	19.40 a b	c9d1	19.80 a b c d
c2	19.08 a b	c4d2	19.75 a b c d
c1	18.73 b c	Abono foliar	19.65 a b c d
c3	18.55 c	c10d1	19.55 a b c d
Diluciones		c8d1	19.50 a b c d
d2	19.41	Industrial	19.50 a b c d
d1	19.4	c5+ AF	19.30 a b c d
		c2d2	19.25 a b c d
Factorial vs.	19.40	c10d2	19.25 a b c d
Testigo	19.36	c4d1	19.15 a b c d
		c1d2	19.00 a b c d
		Testigo Absoluto.	19.00 a b c d
		c3d1	19.98 a b c d
		c6d1	19.95 a b c d
		c2d1	18.90 a b c d
		c5d2	18.75 b c d
		c1d1	18.45 c d
		c3d2	18.15 d

CP = cepas promisorias
 TSI = Testigo Absoluto sin inocular
 TR = C10 - Testigo referencial

(1) Prueba de Tukey al 5 %.

(2) Prueba DMS al 5%.

Diámetro del follaje

Existió diferencias entre cepas e o que a diámetro del follaje se refiere. Así, de acuerdo al (Cuadro, 2), estas diferencias alcanzaron el nivel del 1% para tratamientos, cepas e interacciones de la cepa "c4" versus el resto. De manera parecida, variaron al nivel del 5% las interacciones entre las cepas "c8" y "c9" versus el resto, así como también, el factorial comparado con el adicional.

La cepa "c4" (Machachi, Pichincha) comparada con la cepa "c10" (Colta, Chimborazo), incrementó el diámetro de planta, en un 11%. Este efecto pudo deberse, a las influencias de las pequeñas cantidades de citoquininas, auxinas y giberelinas que *Azotobacter* secreta, tal como lo manifiestan (González-López, 1986), (Gráfico, 2). Para analizar las interacciones, la más destacada fue la "c5d1" (Tumbaco, Pichincha en dilución 1), que mostró el diámetro más elevado con 37.30 cm. Por otro lado, la cepa menos significativa para influenciar el desarrollo del follaje fue la "c10d2", (Colta, Chimborazo en dilución 2) con un promedio de 19.25 cm. (Gráfico, 2).

Cuadro 5. Promedios y pruebas de significación para analizar diámetro de planta en el estudio de diluciones de cepas de *Azotobacter* en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* var. Green Salad Bowl). Tumbaco, Pichincha.

Cepas (1)	Diámetro mayor (cm)	Tratamientos (1)	Diámetro mayor (cm)
c4	36.93 a	c5d1	37.30 a
c1	36.63 a	c1d2	37.05 a b
c2	36.58 a	c4d2	36.95 a b
c8	35.95 a	c4d1	36.90 a b
c7	35.80 a	c2d2	36.85 a b
c3	35.73 a	c8d1	36.60 a b c
c5	35.58 a b	c7d2	36.55 a b c
c9	35.23 a b	c3d2	36.40 a b c
c6	35.13 a b	c2d1	36.30 a b c
c10	33.18 b	c1d1	36.20 a b c
Diluciones		c9d2	35.40 a b c
d1	35.72	Abono foliar	35.40 a b c
d2	35.63	c8d2	35.30 a b c
	(2)	c6d1	35.15 a b c
Factorial	35.67 a	c6d2	35.10 a b c
Testigo	34.55 a	c3d1	35.05 a b c
		c7d1	35.05 a b c
		c9d1	35.05 a b c
		c5+AF	34.95 a b c
		Industrial	34.75 a b c
		c5d2	33.85 a b c
		c10d1	33.55 a b c
		Testigo Absoluto.	33.10 b c
		c10d2	32.80 c

CP = cepas promisorias
CPI = Testigo absoluto sin inocular
CR = Testigo referencial

(1) Prueba de Tukey al 5 %.

(2) Prueba DMS al 5%.

Peso de la planta a la cosecha

El peso es considerada la variable más importante debido a que se relacionan directamente con el rendimiento, (Cuadro, 2), presentando variación altamente significativa (1%) entre tratamientos, cepas e interacciones de las cepas "c1", "c2", "c5" y "c9" versus el resto. Igual nivel de variación se registró para las interacciones cepas por diluciones y factorial por adicional. La significación estadística probablemente se debió, a que especialmente las cepas "c1" (Chapuel, Carchi), "c2" (Cotacachi, Imbabura), y "c5" (Tumbaco, Pichincha), fueron las más influyentes para que las plantas se desarrollen en mayor proporción y peso.

De manera general, las plantas tratadas con *Azotobacter chroococum* presentaron los mayores pesos promedios de plantas, las cuales cuando se compararon con el peso promedio del Testigo Absoluto, mostraron ganancias desde el 49% hasta el 9%. Adicionalmente, cuando se cotejaron con los pesos obtenidos por la cepa "c10" (referencial) (Colta, Chimborazo), presentaron una ganancia del 67% hasta el 22% (Gráfico, 3). De las cepas evaluadas, fue la "c1" recolectada en (Chapuel, Carchi), la que influyó en mayor proporción para incrementar los pesos de las plantas con un promedio de 171.90 gramos, tal es así que, comparada con el testigo Absoluto, logró un incremento en peso del 49%. La cepa "c10" (Colta, Chimborazo), fue la que se ubicó en la última posición, con un promedio de 103.10 gramos (Gráfico, 3). Los efectos sobresalientes de las cepas "c1", (Chapuel,

Carchi), se deben probablemente, a un posible sinergismo con las plantas, al haber permitido tanto una mejor absorción de elementos esenciales como nitrógeno y fósforo, como al efecto de las fitohormonas producidas por las bacterias y aprovechadas por las plantas, lo cual permitió un mayor desarrollo de la parte aérea del cultivo, tal como lo manifiesta (Arshad, 1991).

Cuadro 6. Promedios y pruebas de significación para analizar peso de planta en el estudio de diluciones de cepas de *Azotobacter* en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* var. Green Salad Bowl). Tumbaco, Pichincha.

Cepas (1)	Peso de planta (g)	Tratamientos (1)	Peso de planta (g)
c1	171.90 a	c1d1	177.00 a
c2	165.60 a b	c5d1	174.80 a
c5	149.50 a b c	c2d2	169.80 a b
c4	148.80 a b c	c1d2	166.80 a b c
c7	141.20 b c	c2d1	161.40 a b c d
c9	141.00 b c	c6d2	156.80 a b c d e
c6	134.90 c	c4d1	155.60 a b c d e
c8	126.40 c d	c9d1	144.20 a b c d e f
c3	125.90 c d	c7d2	143.80 a b c d e f
c10	103.10 d	c4d2	142.00 a b c d e f
Diluciones		c7d1	138.60 a b c d e f g
d1	143.68	c9d2	137.80 a b c d e f g
d2	137.98	c8d1	136.60 a b c d e f g
F. vs. T. (2)		c3d2	128.80 a b c d e f g
Factorial	140.83 a	c5d2	124.20 b c d e f g
Testigo	115.03 b	c3d1	123.00 c d e f g
		c5+AF	120.80 d e f g
	Incremento %	c8d2	116.20 d e f g
CP/TSI	49 - 9	c6d1	113.00 e f g
CP/TR	67 - 22	c10d1	112.60 e f g
		Abono foliar	106.80 f g
CP = cepas promisorias		Testigo Absoluto.	104.20 f g
TSI = Testigo absoluto sin inocular		Industrial	100.40 f g
TR = Testigo referencial		c10d2	93.60 g

(1) Prueba de Tukey al 5 %.

(2) Prueba DMS al 5%.

CONCLUSIONES

- ✓ Bajo los mínimos parámetros tradicionales utilizados para la identificación microbiana, la bacteria resultó ser *Azotobacter chroococum*.
- ✓ Se logró conformar un banco de germoplasma de la bacteria *Azotobacter*, la misma que se encuentra en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central.
- ✓ Las diferentes cepas de *A. chroococum* estudiadas, de mostraron su efecto promotor para el

crecimiento en todos los parámetros evaluados: peso de la planta, diámetro de planta. Las cepas que sobresalieron en los parámetros evaluados fueron en su respectivo orden: “c1” (Chapuel, Carchi), “c2” (Cotacachi, Imbabura) y “c5” (Tumbaco, Pichincha).

- ✓ De manera general no se obtuvo con las cepas estudiadas una influencia estable de las diluciones en estudio en sus dos concentraciones 3×10^7 ufc/ml y 3×10^6 ufc/ml.

RECOMENDACIONES

- ✓ Identificar a la bacteria mediante metodología molecular.
- ✓ Identificar las moléculas promotoras del crecimiento producidas y secretadas por la bacteria.
- ✓ Probar el efecto de *Azotobacter* en otras hortalizas.

BIBLIOGRAFIA

- Caicedo, P. 2003. Evaluación de dos cepas de *Azotobacter* spp. En tres variedades de lechuga (*Lactuca sativa*), Tumbaco Pichincha 2003, Tesis Ing. Agr. Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. 97 p.
- Garassini, L. 1967. Microbiología Agraria. Universidad Central de Venezuela. Paranito. Maracay, Venezuela. 413-427
- González M., López, J. 1986. Production of auxinas, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii*. ATCC12837, in chemically defined media and dialyzed soil media. New York, EU. McGraw-Hill: 119-120
- Hammett, H. 1985. *Impomoea batatas*. CRC Hand book of flowerig. Press Boca Ratón. Vol. 3. Florida, USA. p. 52
- Haro, R. 2008. Respuesta de l cultivo de l echuga (*Lactuca sativa* L.) var. Gentina, a l a aplicación foliar complementaria de cuatro bi oestimulantes o rgánicos. Tumbaco, P ichincha. T esis I ng. A gr. Q uito, Universidad Central Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. 108 p.
- Jiménez, D. 2007. Caracterización molecular de cepas nativas Colombianas de *Azotobacter* spp. Mediante el análisis de restricción del DNA ribosomal 16S. Bogotá, Colombia: 105.
- Martínez, V. 1998. Los biofertilizantes como factores de economía y productividad en la agricultura tropical. En: Curso- Taller sobre Agricultura Sostenible en el Trópico, La Habana, Cuba. p. 26-41
- Suquilanda, M. 2003. Producción orgánica de hortalizas en la sierra norte y central del Ecuador. Quito, E.C. Universidad Central del Ecuador. p. 147-160.
- Torres, M., Valencia, S. 2000. Isolation of *Enterobacteria*, *Azotobacter* spp. And *Pseudomonas*, procers of indole-3-Acetic Acid and Siderophores, from Colombian rice Rhizosphere. Revista Latinoamericana de Microbiología. (42): 171-176.