

SOPORTES ORGÁNICOS DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL Y LA SUSTENTABILIDAD DEL SUELO

Organic Supports of Bacteria Promoting Plant Growth and Soil Sustainability

María del Carmen Rivera-Cruz^{1‡}, Pablo Rivón-Hernández² y Antonio Trujillo-Narcía³

RESUMEN

Se realizó un experimento bajo condiciones de vivero durante 12 meses, 2006 a 2007, para evaluar los efectos de tres subproductos agrícolas como soportes de bacterias fijadoras de N *Azospirillum* y *Azotobacter*, y bacterias solubilizadoras de fosfatos en la sustentabilidad del suelo del cultivo de limón agrio mexicano. Se utilizó un arreglo factorial con tres tipos de subproductos agrícolas (cáscara de limón, cachaza y estiércol de pollo o pollinaza), tres dosis (1, 2 y 3% base seca) y el testigo. En total fueron 10 tratamientos con seis repeticiones, distribuidos en un diseño completamente al azar. Las variables evaluadas en el suelo fueron el pH, C, N total, K y P disponibles, densidades poblacional de bacterias y efecto rizósfera. En la planta se evaluaron altura, diámetro del tallo, biomasa aérea, radical y total. Los resultados indicaron que hubo diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$) entre las medias de los 10 tratamientos evaluados. Los subproductos agrícolas promovieron la calidad del suelo y la densidad poblacional de bacterias de los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P, además las plantas crecieron mejor y produjeron mayor cantidad de biomasa. La pollinaza al 1% fue el mejor tratamiento, mientras que al 3% produjo fitotoxicidad, las plantas de limón murieron a los seis meses después del trasplante. Los resultados obtenidos muestran que los subproductos agrícolas pueden ser una alternativa de fertilización al utilizarlos como soportes orgánicos de bacterias promotoras de crecimiento vegetal, debido a que mejoran la calidad del suelo y aumentar el crecimiento de la planta.

¹ Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. Periférico Carlos A. Molina s/n km 3.5. H. Cárdenas, Tabasco, México.

[‡] Autor responsable (mariari@colpos.mx)

² Estudiante, ³ Profesor, Universidad Popular de la Chontalpa. Carretera Cárdenas-Huimanguillo km 2. 86500 H. Cárdenas, Tabasco, México.

Recibido: enero de 2009. Aceptado: febrero de 2011.

Publicado en Terra Latinoamericana 29: 179-188.

Palabras clave: *Azospirillum*, *Azotobacter*, solubilizadora de fosfato, pollinaza, fitotoxicidad.

SUMMARY

An experiment was carried out under nursery conditions during 360 days, from 2006 to 2007, to evaluate the effects of three agricultural bioproducts as carriers of nitrogen fixing bacteria; *Azospirillum* and *Azotobacter*, and phosphate solubilizer bacteria in the soil sustainability cultivated with mexican lemon. An experimental factorial design was utilized for three types of agricultural bioproducts (lemon peel, sugarcane waste and poultry manure), doses were 1, 2 and 3% dry weight and the control. The total of treatments with 10 replications, distributed in a completely randomized design. The pH, C, total N, K and P available, population density of bacteria and rhizosphere effect were evaluated. In the plant we evaluated height, stem diameter, aerial, root and total biomass. The results indicated that there were statistical differences (Tukey, $P \leq 0.05$) among the averages evaluated. The agricultural bioproducts promoted the quality of the soil and the population density of bacteria of *Azospirillum*, *Azotobacter* and phosphate solubilizers, besides the plants grew better and produced greater quantity of biomass. The poultry manure at 1% dose was the best treatment and the dose 3% induced phytotoxicity effect since the lemon plants died 180 days after transplant. The results obtained showed that the agricultural byproducts can be a sustainable alternative as carriers of vegetable growth property development companies bacteria, they improve the quality of the soil and these promote the growth of the plant.

Index words: *Azospirillum*, *Azotobacter*, phosphate solubilizers bacteria, poultry manure and phytotoxic.

INTRODUCCIÓN

La producción de limón se realiza en todas las regiones climáticas tropicales y subtropicales del mundo,

sobre todo en México, India, Argentina, Irán, Italia, España, Portugal, Estados Unidos, Argentina, Brasil, China, Colombia y Turquía (FAO, 2009). La superficie sembrada en México de limón agrio mexicano [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] es de 15 816 ha, con una producción promedio anual de 157 161.73 Mg (SIAP-SAGARPA, 2010).

El sistema de producción intensivo de huertas comerciales se localiza en 15 estados de México, destacando Guerrero y Oaxaca con superficies sembradas superiores a 1000 ha. En los demás estados el cultivo se localiza en huertos familiares con poca superficie. Ambos sistemas de producción se basan en la fertilización con fuentes nitrogenadas, fosfatadas y potásicas de origen mineral. La renovación de plantas en estos sistemas de producción requiere su propagación en condiciones de vivero, para lograrlo es necesario disponer de sustratos y biofertilizantes con buenos niveles de fertilización, a fin de inducir el rápido y vigoroso desarrollo de la planta.

El uso de soportes orgánicos y microorganismos nativos identificados como PGPR (por sus siglas en inglés de plant growth promoting rhizobacteria) integran un biofertilizante y se postulan para la fertilización orgánica de plantaciones de limón mexicano. Los biofertilizantes son soportes que contienen microorganismos vivos aplicados a la semilla, para la colonización de la rizósfera o en el interior de la planta, que promueven el crecimiento porque aumenta el suministro o disponibilidad de nutrimentos primarios a la planta (Vessey, 2003).

Los biofertilizantes como alternativa nutrimental favorecen el equilibrio del agroecosistema (Reganold *et al.*, 1990), restauran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Abiven y Recous, 2007), reducen la aplicación de fertilizantes sintéticos (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000), disminuyen los costos de producción y pérdidas de plantas (Sieverding, 1990).

Existen evidencias del efecto benéfico de los biofertilizantes formulados con soportes orgánicos y PGPR (*Azospirillum* sp, *Azotobacter* sp y solubilizadoras de P) para aumentar la superficie de exploración de la raíz, el crecimiento, biomasa aérea y raíz de la planta (Vessey, 2003) como lo indican Rajendran y Devaraj. (2004), Aguirre-Medina *et al.* (2007), Rivera-Cruz *et al.* (2008) en *Casuarina equisetifolia*, *Theobroma cacao* y *Musa paradisiaca* AAA Simmonds, respectivamente, establecidos en fase de vivero.

El efecto benéfico de los biofertilizantes no se limitan a la etapa de vivero, sino que continúan en el sitio en donde se establece la plantación para su desarrollo y producción. Este efecto se basa en el fortalecimiento del espacio rizosférico el cual va impregnado con el soporte orgánico y las PGPR, esto reduce la mortalidad de la planta después del trasplante y disminuyen los requerimientos de fertilización química de origen sintético (Aguirre-Medina *et al.*, 2007). Por lo tanto, se considera que el manejo del suelo con fertilizantes orgánicos en viveros es biológica y socialmente factible si se utilizan los biofertilizantes basados en soportes orgánicos de tipo agrícola y PGPR nativas de regiones cítricas del sureste de México. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de tres biofertilizantes, integrados con cáscara de limón, cachaza y estiércol de pollo (pollinaza), que funcionan como soportes de *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de fosfato, en las propiedades químicas, biológicas del suelo y en el crecimiento de la planta de limón mexicano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Suelo Utilizado

El suelo se colectó de los horizontes superficiales Ap1 y Ap2 de un Acrisol vértico cutánico úmbrico, cultivado con plantación comercial de limón persa en el estado de Tabasco, México. Las coordenadas geográficas del sitio de colecta son 17° 43' 11.17" N y 93° 28' 43.3" O. El suelo se tamizó en malla de 5 mm de abertura. Las propiedades físico-químicas del suelo fueron; pH, 4.8 (relación suelo-agua 1:2), materia orgánica 3.34% y carbono 5.9% (Walkley y Black, 1934) (Nelson y Sommers, 1982), N total (Nt), 0.11% (micro Kjeldahl) (Page *et al.*, 1982), P (Bray y Kurtz 1), 9.18 mg kg⁻¹ y K disponible, 7.1 mg kg⁻¹ (acetato de amonio 1N) (Norma Oficial Mexicana, 2002).

Preparación de Biofertilizantes

Los biofertilizantes estuvieron constituidos por las formulaciones siguientes. BIO1: cáscara molida de limón + *Azospirillum* sp + *Azotobacter* sp + solubilizadoras de fosfatos. BIO2: cachaza + *Azospirillum* sp + *Azotobacter* sp + solubilizadoras de fosfatos y BIO3: pollinaza + *Azospirillum* sp + *Azotobacter* sp + solubilizadoras de fosfatos. Los tres soportes fueron

agrícolas orgánicos de la región citrícola del estado de Tabasco y las tres cepas de bacterias se aislaron de la rizósfera de plantas de limón persa. Estas plantas estaban ubicadas en el mismo sitio de colecta del suelo. Las cepas son dos fijadoras de N de vida libre [*Azospirillum* sp (MTLS1-20) y *Azotobacter* sp (MTLS1-110)] y una solubilizadora de fosfato (MTLS2-32). Los soportes (cáscara de limón, cachaza y la pollinaza) fueron secados bajo sombra, molidos y tamizados en malla con abertura de 2 mm, y tratados en autoclave a 1.3 kg cm^{-1} y $120 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 minutos.

El inóculo de las tres bacterias se preparó por separado en matraces de 0.5 L durante 78 h en una incubadora con movimiento oscilatorio a 2.71 g y $28 \text{ }^\circ\text{C}$. La cepa de *Azotobacter* fue cultivada en medio de cultivo líquido Ashby (5 g manitol, 5 g K_2HPO_4 , 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g NaCl, 0.1 g K_2SO_4 , 5 g CaCO_3 y 1.0 L de agua destilada, pH 7.0) (Rao, 1999). La cepa de *Azospirillum* se cultivó en medio líquido agar rojo congo (5 g ácido málico, 0.5 g K_2HPO_4 , 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g NaCl, 0.5 g extracto de levadura, 0.015 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 4.8 g KOH, 15 mL de rojo congo, agar 20 g y 1 L agua destilada, pH 7.0) (Rodríguez, 1982). La cepa solubilizadora de fosfatos se estableció en medio de cultivo Pikovskaya's (10 g glucosa, 5 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 0.2 g KCl, 0.5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g extracto de levadura, 0.002 g MnSO_4 , pH 7.0) (Rao, 1982). El tamaño inicial de la población de bacterias en el inóculo fue evaluado con el método de cuenta viable por dilución seriada (Madigan *et al.*, 2004), se cuantificaron 36×10^6 , 59×10^6 y $89 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ *Azospirillum* sp (AZT), *Azotobacter* sp (AZP) y de bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSP), respectivamente. Los tres cultivos con las células bacterianas fueron transferidos a tubos estériles, se centrifugaron a 3828 g a $28 \text{ }^\circ\text{C}$. Las células se resuspendieron en agua estéril, se adicionó 280 mL de una suspensión conteniendo $86 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ a cada 1000 g de soporte orgánico (cáscara de limón, cachaza y pollinaza) dentro de bolsas de polietileno, se incubaron a $28 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 60 días. Los biofertilizantes contenían las siguientes propiedades: BIO1 [pH ($3.7_{1,2} \text{ H}_2\text{O}$), CO (40%), Nt (1.2%), P-Bray y Kurtz 1 (1450 mg kg^{-1}), K ($0.34 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$), AZP ($11 \times 10^3 \text{ UFC g}^{-1}$ soporte seco (ss)), AZOT ($32 \times 10^3 \text{ UFC g}^{-1}$ (ss)) y BSP [$(11 \times 10^3 \text{ UFC g}^{-1}$ ss)]. BIO2 [pH ($8.4_{1,2} \text{ H}_2\text{O}$), CO (26.6%), Nt (3.2%), P-Olsen (2086 mg kg^{-1}), K ($16.9 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$), AZP ($25 \times 10^4 \text{ UFC g}^{-1}$ ss), AZT ($24 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$ ss) y BSP (12×10^5

UFC g^{-1} ss)]. BIO3 [pH ($6.3_{1,2} \text{ H}_2\text{O}$), CO (57.2%), Nt (5.2%), P-Olsen (2869 mg kg^{-1}), K ($34.58 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$), AZP ($48 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$ ss), AZOT ($17 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$ ss) y BSP ($26 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$ ss)].

Establecimiento del Experimento y Variables Evaluadas

El establecimiento del experimento se realizó con los siguientes 10 tratamientos. 1: BIO1-1% (40 g de BIO1 + 3960 g de suelo), 2: BIO1-2% (80 g BIO1 + 3920 g de suelo), 3: BIO1-3% (120 g BIO1 + 3880 g de suelo), 4: BIO2-1% (40 g de BIO2 + 3960 g de suelo), 5: BIO2-2% (80 g BIO2 + 3920 g de suelo), 6: BIO2-3% (120 g BIO2 + 3880 g de suelo), 7: BIO3-1% (40 g de BIO3 + 3960 g de suelo), 8: BIO3-2% (80 g BIO3 + 3920 g de suelo), 9: BIO3-3% (120 g BIO3 + 3880 g de suelo) y finalmente el tratamiento 10: testigo (0 g BIO + 4000 g de suelo). Cada tratamiento tuvo seis repeticiones, en total fueron 60 unidades experimentales (UE). Cada UE consistió de una bolsa de polietileno color negro con capacidad de 4000 g más la planta de limón mexicano. Las variables evaluadas en la planta fueron altura, diámetro del tallo y biomasa; densidad microbiana y propiedades del suelo.

Crecimiento y Biomasa Vegetal

La altura de la planta (AP) se midió una vez al mes durante 12 meses, desde la base del tallo hasta el primordio foliar, se utilizó una regla graduada en cm. Las plantas fueron cosechadas a los 12 meses después del trasplante. Se separaron las biomásas radical (BR), aérea (BF) y total (BFT), se introdujeron en bolsas de papel, se etiquetaron y se secaron en horno a $72 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 72 h.

Microorganismos en Rizósfera y en Suelo a Distancia

La densidad de bacterias se contó en muestras de suelo rizosférico y suelo a distancia colectados a los 12 meses después del trasplante de limón mexicano. Se utilizó la técnica de dilución seriada de 10^{-1} a 10^{-5} en $100 \mu \text{L}$ de cada una, se inoculó en medios de cultivos específicos (Madigan *et al.*, 2004). Los medios de cultivos fueron sólidos Ashby para *Azotobacter* sp (Rao, 1999), agar rojo congo para *Azospirillum* sp en donde se observó la formación de colonias pequeñas secas

de color rojo escarlata (Rodríguez, 1982) las cuales fueron cuantificadas y Pikovskaya's para bacterias solubilizadoras de fosfatos (Rao, 1982).

Determinación de las Propiedades Químicas

Las muestras de suelos colectadas a los 12 meses y los biofertilizantes antes de establecer el experimento se secaron bajo sombra, se tamizaron en mallas de 0.5 y 2 mm de abertura y se realizaron las siguientes determinaciones: pH (relación suelo:agua 1:2), materia orgánica por combustión seca a 450 °C durante 24 h (Nelson y Sommers, 1982), carbono (C) se calculó con el factor de Van Benmelen de 1.724 a partir del contenido de la materia orgánica, nitrógeno total (Nt), fósforo (P-Olsen) y fósforo (P-Bray y Kurtz 1), según las técnica que se especifican en la Norma Oficial Mexicana, (2002).

Análisis de Datos

El análisis de varianza fue determinado para cada variable, la comparación de medias fue mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Se realizó la correlación divariada mediante el coeficiente de Pearson. El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico SPSS para windows versión 12 (Camacho, 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Carbono del Suelo

Los contenidos de carbono (C) aumentaron por el efecto de la adición al suelo de microorganismos integrados a residuos vegetales (cáscara de limón y cachaza) y pollinaza como soportes de PGPR. Los mayores contenidos de C se determinaron en suelos enriquecidos con los biofertilizantes BIO2-3% y BIO3-3%, los cuales incrementaron en 23.3 y 23.1% respectivamente en comparación con el tratamiento testigo (Cuadro 1). Este mismo comportamiento fue encontrado por Lai *et al.* (2008) al aplicar estiércol de cerdo inoculado con *Azospirillum* en suelo cultivado con lechuga (*Lactuca sativa*), que incrementó en 34% el C respecto al testigo después de 40 días del transplante. Asimismo Canali *et al.* (2004) determinaron 10.5% mayor contenido de C en suelo tratado con estiércol de granja que en el suelo testigo. La investigación efectuada por Eklind (2000) identificó que la cantidad de C

resistente a la descomposición durante el proceso de compostaje depende del contenido inicial de lignina, esto puede ser posible por las mayores cantidades de compuestos ligno-celulíticos, que son más resistentes a la degradación microbiana que las deyecciones animales como son los estiércoles (Nahm, 2003).

Potencial Hidrógeno, Nitrógeno, Fósforo y Potasio en Suelo

Los valores del pH en suelo con el biofertilizante BIO1 fueron similares al del testigo pero estadísticamente diferentes al de los suelos donde se emplearon los biofertilizantes BIO2 y BIO3 (Cuadro 1). El incremento en los suelos del pH por efecto de la inoculación con biofertilizante se explica por la adición de cationes básicos contenidos en los soportes orgánicos de las PGPR (Cavallaro *et al.*, 1993). El BIO2 incorporado en suelo aumentó 1.07 unidades el valor del pH, esto puede estar relacionado con la composición del soporte vegetal (cachaza) rico en cationes por el procesamiento de los jugos en el P-Bray y Kurtz1P-Bray y Kurtz1 en los ingenios azucareros. Al respecto, Redel *et al.* (2006) y Moyin-Jesu (2007) encontraron incrementos de los valores del pH por efecto de soportes vegetales en suelo cultivado con trigo (*Triticum*) comparados con suelos sin residuos vegetales. Efectos similares fueron observados (Melero *et al.*, 2007) en trigo (*Triticum*), girasol (*Helianthus*) y lenteja (*Lens*) en condiciones de campo en suelos con composta de residuos animales comparados con suelos sin composta. Nuestros resultados muestran que el BIO3 indujo el aumento del pH en dos unidades, posiblemente fue originado por la composición química de la pollinaza.

El nitrógeno total presentó diferencias significativas entre medias de los 10 tratamientos evaluados (Cuadro 1). Los mayores contenidos de N total (0.483%) se determinaron en suelo tratado con el BIO3 en dosis de 3% (Cuadro 1), fueron mayor 2.2 veces respecto al tratamiento testigo. Estos resultados coinciden con los reportados por Canali *et al.* (2004) en suelo adicionado con estiércol de granja. Esta respuesta puede asociarse con los hallazgos de Nahm (2003) quien afirma que el N orgánico de la pollinaza tiene mayores contenidos de N lábil procedente de las heces y orina, y que de acuerdo con Shriver *et al.* (2003) son originados por los altos contenidos protéicos de la dieta de los animales que contribuyen en la liberación de N.

Cuadro 1. Potencial hidrógeno y contenido nutrimental del suelo bajo diferentes tipos y dosis de biofertilizantes (BIO1, BIO2 y BIO3), 12 meses después del trasplante de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*).

Tratamiento	pH		C		Nt		P		K	
	H ₂ O		- - - - - % - - - - -				mg kg ⁻¹		cmol ₍₊₎ kg ⁻¹	
BIO1-1%	4.54 ± 0.17	dc [†]	9.7 ± 0.44	c	0.213 ± 0.056	e	14.14 ± 0.77	f	6.47 ± 0.77	c
BIO1-2%	4.07 ± 0.21	d	9.8 ± 0.98	b	0.230 ± 0.043	ed	13.66 ± 0.9	f	6.87 ± 0.05	c
BIO1-3%	4.14 ± 0.11	dc	10.6 ± 0.77	a	0.261 ± 0.07	dc	13.57 ± 0.12	f	6.95 ± 0.09	c
BIO2-1%	5.88 ± 0.08	b	9.4 ± 0.81	c	0.243 ± 0.021	edc	25.66 ± 0.13	e	7.17 ± 0.19	b
BIO2-2%	5.87 ± 0.36	b	9.6 ± 0.64	c	0.252 ± 0.027	edc	28.6 ± 0.17	e	7.46 ± 0.77	bc
BIO2-3%	5.77 ± 0.07	b	9.9 ± 0.14	ab	0.255 ± 0.09	edc	34.16 ± 0.33	d	8.20 ± 0.87	b
BIO3-1%	6.13 ± 0.45	ba	9.6 ± 0.51	c	0.280 ± 0.017	c	50.70 ± 0.09	c	12.49 ± 0.45	a
BIO3-2%	6.7 ± 0.23	a	10 ± 0.33	ab	0.366 ± 0.056	b	62.96 ± 0.08	b	13.33 ± 0.54	a
BIO3-3%	6.82 ± 0.19	a	10.7 ± 0.77	a	0.483 ± 0.07	a	88.76 ± 0.16	a	13.51 ± 0.17	a
Testigo	4.81 ± 0.12	c	5.7 ± 0.39	d	0.219 ± 0.03	ed	15.5 ± 0.56	f	7.17 ± 0.6	bc

[†] Cifras con mismas letras dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$, $a > b$) (n = 6). BIO1 = biofertilizante 1, conteniendo cáscara de limón, consorcio de bacterias (*Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de fosfato). BIO2 = biofertilizante 2, conteniendo cachaza y consorcio de bacterias del BIO1. BIO3 = biofertilizante 3, conteniendo estiércol de pollo y consorcio de bacterias del BIO1. Nt = nitrógeno total. C = carbono. P = fósforo disponible. K = potasio disponible.

Los contenidos de P y K disponibles en suelo testigo fueron 15.5 mg kg⁻¹ y 7.17 cmol₍₊₎ kg⁻¹, respectivamente (Cuadro 1). Estos contenidos se incrementaron de manera significativa por la adición del biofertilizante (BIO3) con respecto al suelo testigo; en cambio, los contenidos fueron igual de bajos que el suelo testigo comparado con los suelos enmendados con el BIO1. La disminución de ambos nutrimentos se correlacionó en forma positiva y altamente significativa con el pH (Cuadro 2). Al respecto, Porta *et al.* (1999) mencionan que a valores inferiores de 5.5 existe poca disponibilidad

de nutrimentos en suelo debido a la baja descomposición de la materia orgánica y por la escasa densidad de bacterias y hongos. No se encontró relación entre los contenidos de P disponible en suelo con la densidad de BSP. La misma ausencia de relación ocurrió entre el contenido de K, la densidad de *Azotobacter* y *Azospirillum*, aunque se observó relación significativa con BSP (Cuadro 1).

Nziguheba *et al.* (2000), Redel *et al.* (2006), Melero *et al.* (2007) y Moyin-Jesu (2007) encontraron que el P y K disponibles en suelo se incrementaron al adicionar

Cuadro 2. Correlación entre variables del suelo y características de la planta en la aplicación de tres tipos de biofertilizantes (BIO1, BIO2 y BIO3), 12 meses después del trasplante de limón mexicano (*Citrus aurantifolia*).

Variables	C	Nt	P	K	AP	DT	BR	BF	BT	AZP	AZT	BSP
pH	0.511**	0.674**	0.839**	0.769**	0.369*	NS						
C		0.617**	0.611**	0.484**	NS	NS	NS	NS	NS	0.459**	NS	NS
Nt			0.927**	0.820**	0.591**	0.482**	NS	NS	NS	0.547**	0.349*	0.399*
P				0.926**	0.49**	0.300	NS	NS	NS	0.466**	NS	NS
K					NS	NS	0.389*	0.403*	0.423**	NS	0.329	0.441*
AP						0.866**	0.565**	0.731**	0.665**	NS	0.574**	0.618**
DT							0.802**	0.868**	0.956**	NS	0.538**	0.651**
BR								0.868**	0.956**	NS	0.538**	0.651**
BF									0.967**	NS	0.691**	0.775**
BT										NS	0.650**	0.751**
AZP											0.738**	0.930**
AZT												0.779**

* Correlación significativa con nivel de 0.05. ** Correlación altamente significativa con nivel de 0.01. AP = altura de planta. DP = diámetro de tallo. BR = biomasa de raíz. BF = biomasa foliar. BT = biomasa total de planta. AZP = *Azospirillum*. AZT = *Azotobacter*. BSP = solubilizadoras de fosfatos.

compostas de residuos vegetales y también con la incorporación de estiércol animal. Los resultados de esta investigación muestran la misma respuesta, los contenidos de ambos elementos aumentaron según la dosis de BIO2 adicionada al suelo, pero el aumento fue mayor al adicionar BIO3. El BIO2-3% acumuló en el suelo 34.16 mg kg^{-1} de P y $8.20 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$ de K disponibles (Cuadro 2). La concentración aumentó por el efecto del BIO3 con 3% de pollinaza, 88.76 mg kg^{-1} de P y $13.51 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$ de K, fueron 5.7 y 1.9 veces mayores que los contenidos del suelo testigo. Esta respuesta, según el tipo y dosis de biofertilizante inoculado, se relacionó de manera altamente significativa con los valores del pH del suelo (Cuadro 2). Se identificó que en suelos con pH entre 5.8 a 6.8 (mediana y ligeramente ácidos) se encontraron los mayores contenidos de P y K, lo cual coincide con Porta *et al.* (1999), quienes afirman que los nutrientes del suelo son disponibles en suelos cuando el pH es medianamente ácido a neutro.

Población de Bacterias y Efecto Rizósfera

Las mayores densidades de *Azospirillum* ($138 \times 10^3 \text{ UFC g}^{-1}$ suelo rizosférico), de *Azotobacter* ($42 \times 10^3 \text{ UFC g}^{-1}$) y de bacterias solubilizadoras de fosfatos ($1118 \times 10^3 \text{ UFC g}^{-1}$) en rizósfera de plantas de limón mexicano, se localizó en el suelo tratado con pollinaza (BIO3-1%) como soporte de bacterias (Cuadro 3). El aumento de *Azospirillum* con respecto al suelo sin enmendación (testigo) fue de 17.3 veces, en *Azotobacter* 41 veces y en las bacterias solubilizadoras de fosfatos 140 veces. Dosis de 3% de BIO3 (soporte pollinaza) causó efecto negativo, inhibió severamente la densidad de los tres tipos de poblaciones de bacterias, incluso fue inferior que las poblaciones del suelo testigo. El efecto tóxico de la adicción de 2 y 3%, que ocurrió en la densidad de bacterias posiblemente fue originado por los altos contenidos de N total (0.483%) en pollinaza.

El efecto rizósfera fue localizado en limón mexicano plantado en suelo sometido a nueve tratamientos integrados por tipos y dosis de biofertilizantes (Cuadro 3). Su localización es un indicador de la importancia del volumen de suelos alrededor de la raíz, en donde según Singh *et al.* (2006) existe la disponibilidad de carbono y concentraciones de nutrientes generados por las plantas durante la fotosíntesis. Los microorganismos colonizan el espacio rizosférico e intervienen en los ciclos de

nutrimentos para incrementan la habilidad de la planta en la absorción de nutrientes desde el suelo.

La correlación de la población de *Azospirillum* con los contenidos de C, N total y P disponible fue altamente significativa con niveles de 0.01 (0.46, 0.55 y 0.47 respectivamente), pero no con K disponible (Cuadro 2). *Azotobacter* y las bacterias solubilizadoras de fosfatos tuvieron relación significativa sólo con la cantidad de N total. Investigaciones realizadas por Ravikumar *et al.* (2004) muestran que los contenidos de N tienen alta correlación significativa con la población de bacterias totales heterótrofas ($r = 0.95$) y con *Azotobacter* ($r = 0.80$).

El efecto rizósfera fue observado en nueve de los 10 tratamientos evaluados (Cuadro 3). El suelo enmendado con el BIO3-1% que contenía pollinaza promovió el tamaño de las poblaciones de las bacterias inoculadas, estadísticamente fue el mejor soporte. En la mayor densidad de bacterias *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de fosfatos en rizósfera de limón mexicano, parece ser que influyeron dos causas. Una es que en la rizósfera se acumulan los exudados, que incluyen azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, iones inorgánicos, oxígeno, dióxido de carbono, iones de bicarbonatos, enzimas, sideróforos, hormonas y vitaminas que son fuente de carbono y energía para los microorganismos (Uren, 2001; Gobat *et al.*, 2004). La segunda posible causa fue la aplicación de los soportes orgánicos contenidos en los biofertilizantes, aumentaron la materia orgánica como fuente de energía y el aporte de nutrientes mediante la liberación de nitrógeno, potasio, calcio y magnesio (Redel *et al.*, 2006). El BIO3-3% inhibió el crecimiento de la planta, al parecer la pollinaza causó efecto fitotóxico, la planta creció poco desde el trasplante (el día 1) hasta el día 150, creció menos de la mitad que la planta del suelo testigo. Al día 180 la planta se secó en su totalidad, por lo tanto no se determinó el efecto rizósfera (Cuadro 3).

Crecimiento de Planta y Biomasa Vegetal

Las medias de la altura de la planta un mes después del trasplante no tuvieron diferencias estadísticas significativas pero si se identificaron diferencias a partir de los tres meses (Cuadro 4). A los seis meses fue notorio el efecto de la adaptación de la raíz de la planta a los soportes orgánicos que contienen los biofertilizantes, el crecimiento de la planta fue mayor en suelo con BIO2

Cuadro 3. Población de bacterias (10^3 UFC g^{-1} suelo o rizósfera seca) y efecto rizósfera en limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) enmendado con tres biofertilizantes, 12 meses después del trasplante.

Tratamientos	<i>Azospirillum</i>			<i>Azotobacter</i>			Solubilizadoras de fosfatos		
	RZO	S	ER	RZO	S	ER	RZO	S	ER
BIO1-1%	15 f [†]	0.2 d	75	2 d	0.57 e	0.35	74 e	48 d	1.54
BIO1-2%	18 e	0.2 d	90	23 b	7 c	1.85	42 f	22 f	1.88
BIO1-3%	0.74 h	0.4 d	1.84	4 d	12 b	0.16	194 bc	38 e	5.05
BIO2-1%	28 de	2.3 b	12	23 b	27 a	9.39	138 d	19 g	8.37
BIO2-2%	30 d	0.2 d	150	2 d	2 d	1.13	21 g	69 c	0.31
BIO2-3%	48 b	0.3 d	160	3 d	2 d	1.71	183 c	34 d	5.39
BIO3-1%	138 a	4.2 a	32.8	42 a	1 e	1638	1118 a	82 b	13.71
BIO3-2%	43 c	1.9 c	22.6	19 c	0.026 f	407	244 b	120 a	2.03
BIO3-3%	0 i	0 f	0	0 e	0.049 f	0	0 i	0 i	0
Testigo	8 fg	0.1 e	80	1 d	0 g	2.69	8 h	1 h	6.11

[†] Cifras con mismas letras dentro de la rizósfera y de cada bacteria son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$, $a > b$, $n = 6$). RZO = rizósfera. S = suelo a distancia. ER = efecto rizósfera.

(cachaza) en dosis de 2% comparados con el crecimiento de la planta en suelo sin biofertilizante. Esta respuesta coincide con los resultados de Okumoto (2003) que afirma que la descomposición del material orgánico sucede durante un periodo de tres a seis meses, la materia orgánica pierde energía y produce gran cantidad de calor, N amoniacal y CO_2 , que son residuos de la oxidación de la materia orgánica. Estos productos de la descomposición se incorporan en el ambiente y con ello la energía liberada, forma un producto mineralizado con poca energía acumulada que no incrementa la temperatura, y por lo tanto existe un ambiente favorable para el crecimiento de la planta. El BIO3-1% de pollinaza promovió el mayor crecimiento de la planta de limón mexicano a los nueve meses hasta el término de la prueba (12 meses). El efecto positivo de 1% de BIO3 medido a los 12 meses fue 114% mayor altura de la planta respecto a la que creció en suelo testigo (Cuadro 4). Resultados obtenidos por Jeyabal y Kuppaswamy (2001) al aplicar biofertilizante integrado con estiércol de granja + *Azospirillum*, aumentó un máximo de 15% la altura de la planta de arroz (*Oriza sativa*) respecto al adicionar solo estiércol de granja. Datos recientes (Tabrizi *et al.*, 2008) confirman que la altura de la planta de hisopo (*Hyssopus officinalis*) aumentó por el efecto de la inoculación de las bacterias *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Pseudomonas fluorescens* solubilizadoras de P en sustrato enriquecido con estiércol de ganado bovino.

El suelo tratado con el BIO3-2% originó disminución de 34.7% de altura pero al aumentar la dosis a 3% la planta se secó a partir de los seis meses después del

trasplante (Cuadro 4). Según Wu y Ma (2002) y Wang *et al.* (2004) las causas de la reducción del crecimiento vegetal por el efecto de la fertilización orgánica puede ser originada por la presencia de compuestos fitotóxicos por la inapropiada estabilización de la materia orgánica, así como también por la cantidad de fertilizante orgánico aplicado (Cooperband *et al.*, 2003).

El diámetro del tallo en plantas de vivero de limón mexicano fue importante porque es utilizado de referencia para determinar el momento de realizar el injerto. Los resultados obtenidos muestran que a los 12 meses después del trasplante existen diferencias significativas de las medias de los diámetros de las plantas evaluadas

Cuadro 4. Comparación de medias en la altura de planta de limón mexicano inoculadas con diferentes tipos y dosis de biofertilizante.

Tratamientos	Tiempo (meses después del trasplante)				
	1	3	6	9	12
	Altura (cm)				
BIO1-1%	4.1 a [†]	10.5 cd	32.5 ab	52 c	76.5 cd
BIO1-2%	4.5 a	11.5 cd	23 c	56 bc	88 cd
BIO1-3%	4.3 a	11.7 cd	35.5 ab	71 bc	105 b
BIO2-1%	4.1 a	12.7 bcd	28.5 b	48.5 cd	70.5 d
BIO2-2%	4.4 a	18.5 ab	37 ab	48.5 cd	63.6 e
BIO2-3%	3.9 a	19 ab	31 ab	60.5 bc	82.5 cd
BIO3-1%	4.1 a	10.3 cd	25 c	91 a	121 a
BIO3-2%	4.2 a	14.8 abc	22.2 c	42 d	79 cd
BIO3-3%	4.2 a	7.3 cd	0 d	0 e	0 g
Testigo	4.1 a	19 a	31 ab	40 d	56.5 f

[†] Cifras con mismas letras dentro de cada tiempo son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$, $a > b$, $n = 6$).

(Cuadro 5). El biofertilizante BIO3 con 1% promovió el mayor diámetro con 10.6 cm, fue 83% mayor que el diámetro de planta que creció en suelo testigo. Tabrizi *et al.* (2008) también encontraron que el diámetro del tallo de la planta de hisopo (*Hyssopus officinalis*) fue mayor cuando utilizaron estiércol de ganado bovino inoculado con las bacterias *Azotobacter*, *Azospirillum* y con bacterias *Pseudomonas fluorescens* solubilizadoras de P.

Con relación a la biomasa, la mayor cantidad de materia seca a los 12 meses fue promovida por el mismo biofertilizante BIO3 al 1%. El BIO1 y BIO2 con tres dosis, aunque con un poco de menor biomasa seca producida, también tienen potencial, dado que las plantas formaron mayor biomasa que las plantas del suelo testigo. Otras investigaciones (Redel *et al.*, 2006) identificaron incrementos significativos hasta 60% del rendimiento de materia seca de planta de trigo (*Triticum*) en suelos enmendados con residuos orgánicos.

Al relacionar los contenidos de CO₂, Nt, P y K disponibles y pH del suelo con la altura de la planta, el diámetro del tallo, biomasa radical, aérea y total de la planta, se encontró correlación significativa entre las variables (Cuadro 2). Es probable que la respuesta se deba a la existencia de una mayor disponibilidad de nutrientes del biofertilizante para la planta, aunque el BIO3-3% causó efecto fitotóxico en la planta, que se manifestó en menor crecimiento o en la muerte de la planta. Se encontraron correlaciones altamente significativas entre las densidades poblacionales de AZT y con BSP (Cuadro 2).

CONCLUSIONES

Los biofertilizantes aplicados al suelo donde crecen plantas de limón mexicano en vivero favorecieron de manera selectiva los contenidos de CO₂, Ntotal, P, K, densidad de *Azospirillum*, *Azotobacter* y bacterias solubilizadoras de fosfato en suelo, así como también en el crecimiento vegetal, en formación de biomasa vegetal. Pollinaza en dosis de 1%, como acarreador de bacterias reguladoras de crecimiento vegetal, favoreció el desarrollo de la planta y en las dosis de 2 y 3% causaron efectos inhibitorios y letales. El biofertilizante promovió efecto positivo en la rizósfera en cuanto a la densidad de *Azospirillum*, *Azotobacter* y bacterias solubilizadoras de fosfatos, inoculadas con diferentes dosis y tipos de biofertilizantes y con planta de limón mexicano, lo anterior sugiere por la correlación significativa con N total, que son factores favorables para el desarrollo de la planta de limón mexicano en vivero. La altura de la planta y diámetro de tallo tuvieron correlación con Ntotal, pero la biomasa seca no mostró correlación con el pH, N total, P y K.

AGRADECIMIENTO

Al CONACYT de México y al Gobierno del estado de Tabasco, que a través del Programa Fondos Mixtos, proporcionaron el financiamiento del proyecto TAB-2005-C06-16416 “Desarrollo de sistema de fertilización orgánica para el cultivo de limón persa (*Citrus aurantium*) en Huimanguillo, Tabasco”.

Cuadro 5. Diámetro del tallo y biomasa seca de la planta de limón mexicano a los 12 meses después de la siembra e inoculados con biofertilizantes.

Tratamiento	Diámetro de tallo cm	Biomasa seca g		
		Radical	Foliar	Total
BIO1-1%	6.1 ± 0.79 bc	19.4 ± 3.75 bc	14.9 ± 1.02 cd	34.3 ± 4.85 bc
BIO1-2%	6.7 ± 0.39 bc	16.4 ± 2.55 bc	18.5 ± 0.9 bc	34.9 ± 6.10 bc
BIO1-3%	6.8 ± 0.10 bc	16.4 ± 2.03 bc	21.9 ± 2.7 bc	38.4 ± 4.70 bc
BIO2-1%	5.5 ± 1.43 c	8.6 ± 6.05 c	11.1 ± 3.6 d	19.7 ± 11.25 cd
BIO2-2%	7.2 ± 0.20 bc	38.1 ± 3.85 ab	19.35 ± 1.99 bc	38.4 ± 5.11 bc
BIO2-3%	6.4 ± 0.38 bc	17.2 ± 0.9 bc	18.6 ± 12.7 bc	35.8 ± 3.60 bc
BIO3-1%	10.6 ± 0.09 a	56.3 ± 24.5 ab	48.6 ± 13.8 a	104.92 ± 4.05 a
BIO3-2%	9.3 ± 0.68 a	48.9 ± 3.55 ab	43.5 ± 10.1 a	92.5 ± 1.4 a
BIO3-3%	0 ± 0 d	0 ± 0 d	0 ± 0 e	0 ± 0 d
Testigo	5.8 ± 0.16 bc	12.5 ± 1.20 c	11.1 ± 1.3 d	23.6 ± 2.15 bcd

† Cifras con mismas letras dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$, $a > b$, $n = 6$).

LITERATURA CITADA

- Abiven, S. and S. Recous. 2007. Mineralization of crop residues on the soil surface or incorporated in the soil under controlled conditions. *Biol. Fertil. Soils* 43: 849-852.
- Aguirre-Medina, J. F., A. Mendoza-López, J. Cadena-Iñiguez y C. Avendaño-Arrazate. 2007. Efecto de la biofertilización en vivero del cacao (*Theobroma cacao* L.) con *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner y *Glomus intraradices* Schenk et Smith. *Interciencia* 32: 541-546.
- Alarcón, A. y R. Ferrera-Cerrato. 2000. Biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura. *Agric. Téc. Méx.* 26: 191-203.
- Bray, R. H. and L. T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.
- Camacho, R. J. 2006. Estadística con SPSS para Windows versión 12. Alfaomega. México, D. F.
- Canali, S., A. Trinchera, F. Intrigliolo, L. Pompili, L. Nisini, S. Mocali, and B. Torrisi. 2004. Effect of long term addition of composts and poultry manure on soil quality of citrus orchards in southern Italy. *Biol. Fertil. Soils* 40: 206-210.
- Cavallaro, N., N. Padilla, and J. Villarubia. 1993. Sewage sludge effects on chemical properties of acid soils. *Soil Sci.* 156: 63-70.
- Cooperband, L. R., A. G. Stone, M. R. Fryda, and J. L. Ravet. 2003. Relating compost measures of stability and maturity to plant growth. *Compost Sci. Util.* 11: 113-124.
- Eklind, Y. and H. Kirchmann. 2000. Composting and storage of organic household waste with different litter amendments. I. Carbon turnover. *Biores. Technol.* 74: 15-124.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2009. FAOSTAT. www. fao.org. (Consulta: enero 5, 2009).
- Gobat, J.-M., M. Aragno, and W. Matthey. 2004. The living soil. *Fundamentals of soil science and soil biology.* Science Publishers. Enfield, NH, USA.
- Jeyabal, A. and G. Kuppuswamy. 2001. Recycling of organic wastes for the production of vermicompost and its response in rice-legume cropping system and soil fertility. *Europ. J. Agron.* 15: 153-170.
- Lai, W.-A., P. D. Rekha, A. B. Arun, and C. C. Young. 2008. Effect of mineral fertilizers, pig manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L. *Biol. Fertil. Soils* 45: 155-164.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko y J. Parker. 2004. *Brock. Biología de los microorganismos.* Pearson Educación. Madrid, España.
- Melero, S., E. Madejón, J. C. Ruiz, and J. F. Herencia. 2007. Chemical and biochemical properties of a clay soil under dryland agriculture system as affected by organic fertilization. *Europ. J. Agron.* 26: 327-334.
- Moyin-Jesu, E. I. 2007. Use of plant residues for improving soil fertility, pod nutrients, root growth and pod weight of okra (*Abelmoschus esculentum* L.). *Biores. Technol.* 98: 2057-2064.
- Nahm, K. H. 2003. Evaluation of the nitrogen content in poultry manure. *World's Poultry Sci. J.* 59: 77-88.
- Nelson, D. W. and L. E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic carbon. pp. 539-579. *In:* L. A. Page, H. R. Miller, and R. D. Keeney (eds.). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties.* ASA. SSSA. Madison, WI, USA.
- NOM-021-RECNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana). 2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis. *Diario Oficial de la Federación.* México, D. F.
- Nziguheba, G., R. Merckx, C. A. Palm, and M. R. Rao. 2000. Organic residues affect phosphorus availability and maize yields in a Nitisol of western Kenya. *Biol. Fertil. Soils* 32: 328-339.
- Okumoto, S. 2003. Uso de inoculante microbiano para la elaboración de abono orgánico. pp. 1-8 *En:* Meléndez G. y G. Soto (eds.). *Taller de abonos orgánicos. 3 y 4 de marzo.* El proyecto NOS del CATIE/GTZ, el Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica y la Cámara de Insumos Agropecuarios No Sintéticos. Sabánilla, Costa Rica.
- Page, A. L., R. H. Miller, and D. R. Keeney. 1982. Nitrogen total. pp. 595-629. *In:* L. A. Page, H. R. Miller, and R. D. Keeney (eds.). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties.* ASA. SSSA. Madison, WI, USA.
- Porta C., J., M. López-Acevedo R. y C. Roquero de Laburu.. 1999. *Edafología para la agricultura y el medio ambiente.* Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Rajendran, K. and P. Devaraj. 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass Bioenergy* 26: 235-249.
- Rao, N. S. 1982. *Biofertilizers in agriculture.* Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi, India.
- Rao, N. S. 1999. *Soil microorganisms and plant growth.* Oxford and IBH Publ. New Delhi, India.
- Ravikumar, S., K. Kathiresan, M. I. S. Thadedus, M. B. Selvam, and S. Shanthi. 2004. Nitrogen-fixing azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. *J. Exp. Marine Biol. Ecol.* 312: 5-17.
- Redel, Y., R. Rubio y F. Borie. 2006. Efecto de la adición de residuos de cosecha y de un hongo micorrizógeno sobre el crecimiento de trigo y parámetros químicos y biológicos de un Andisol. *Agric. Téc.* 66: 174-184.
- Reganold, J. P., R. I. Papendick, and J. F. Parr. 1990. Sustainable agriculture. *Sci. Am.* 262: 112-120.
- Rivera-Cruz, M. C., A. Trujillo-Narcía, G. Cordova B., J. Kohler, F. Caravaca, and A. Roldán. 2008. Poultry manure and banana waste are effective biofertilizer carriers for promoting plant growth and soil sustainability in banana crops. *Soil Biol. Biochem.* 40: 3092-3095.
- Rodríguez C., E. A. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 990-991.
- Shriver, J. A., S. D. Carter, A. L. Sutton, B. T. Richert, B. W. Senne, and L. A. Pettey. 2003. Effects of adding fiber sources to reduced-crude protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen excretion, growth performance, and carcass traits of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 81: 492-502.
- SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2010. *Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta 1980-2008 (SIACON).* México, D. F.
- Sieverding, E. 1990. Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agr. Ecosyst. Env.* 29: 369-390.

- Singh, G., K. G. Mukerji 2006. Root exudates as determinant of rhizospheric microbial biodiversity. pp. 39-53. *In*: K. G. Mukerji, C. Manoharachary, and J. Singh (eds.). Microbial activity in the rhizosphere. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York, NY, USA.
- Tabrizi, L., A. Koocheki, and R. Ghorbani. 2008. Effect of biofertilizers on agronomic criteria of hyssop (*Hyssopus officinalis*). 16th IFOAM Organic World Congress. Modena, Italy.
- Uren, N. C. 2001. Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. pp. 19-40. *In*: R. Pinton, Z. Varanini, and P. Nannipieri (eds.). The rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. Marcel Dekker. New York, NY, USA.
- Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255: 571-586.
- Walkley, A. and I. A. Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.
- Wang, P., C. M. Changa, M. E. Watson, W. A. Dick, Y. Chen, and H. A. J. Hoitink. 2004. Maturity indices for composted dairy and pig manures. *Soil Biol. Biochem.* 36: 767-776.
- Wu, L. and L. Q. Ma. 2002. Relationship between compost stability and extractable organic carbon. *J Environ. Qual.* 31: 1323-1328.