

DINAMICA DEL FOSFORO Y ACTIVIDAD BIOLOGICA EN LAS MICORRIZOSFERAS DE DOS ECOSISTEMAS ADYACENTES CON VEGETACION Y SUELOS CONTRASTANTES

PHOSPHATE DYNAMICS AND BIOLOGICAL ACTIVITY IN THE MYCORRHIZOSPHERES OF TWO ADJACENT ECOSYSTEMS WITH CONTRASTING VEGETATION AND SOILS

Marcia Toro, Julio Blones e Ismael Hernández-Valencia

Laboratorio de Estudios Ambientales, Instituto de Zoología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas 1041-a, Apartado 47.058, Venezuela. E-mail: mtoro@strix.ciens.ucv.ve; ihernand@strix.ciens.ucv.ve

RESUMEN

Los microorganismos solubilizadores de fosfatos contribuyen al ciclaje del fósforo (P) en el suelo, ya que al interactuar con las micorrizas arbusculares (MA) favorecen su utilización por las plantas, particularmente en suelos pobres en P. En este trabajo se estudiaron las diferentes formas del P presentes en la rizósfera de las especies predominantes en dos ecosistemas que se desarrollan sobre sustratos geológicos contrastantes: un bosque decíduo sobre suelos calcáreos y una sabana sobre suelos cuyo material parental es de origen volcánico. En el bosque se estudiaron las especies *Oplismenus hirtellus* (L.) P. Beauv. (Poaceae), *Croton niveus* Jacq. (Euphorbiaceae), *Machaerium robiniaefolium* (DC.) Vogel (Fabaceae) y *Calliandra laxa* (Willd.) Benth. (Fabaceae), mientras que en la sabana se estudió a la gramínea *Schyzachirium sanguineum* (Retz.) Alston (Poaceae). En la micorrizósfera de las plantas seleccionadas, se determinó el número de hongos y bacterias solubilizadores de fosfatos, así como el porcentaje de colonización de MA, como indicadores del aprovechamiento del P en las rizósferas de las especies mencionadas. Se encontraron diferencias significativas en el pH y en los contenidos de calcio, P disponible, P microbiano, P total y actividad fosfatásica, siendo mayores en las especies del bosque respecto a la sabana. El número de microorganismos totales y de solubilizadores de fosfatos fue mayor en el bosque. El mayor número de solubilizadores de fosfato cálcico del suelo calcáreo sugiere que los microorganismos predominantes estarían adaptados a utilizar las formas de P asociadas al calcio en este suelo. Los resultados sugieren también que los altos valores de colonización micorrízica y de organismos solubilizadores de fosfatos en las especies del bosque constituirían un mecanismo que favorece la absorción de P por parte de una vegetación con mayor demanda de este elemento.

ABSTRACT

Phosphate solubilizing microorganisms contribute to phosphorus (P) cycling in soil, interacting with arbuscular mycorrhiza (AM) and enhancing plant P nutrition, specially in P-deficient soils. It was studied different P fractions in the rhizosphere of dominant species of two different ecosystems. A deciduous forest growing on calcareous soils and a open savanna growing on volcanic soils. *Oplismenus hirtellus* (L.) P. Beauv. (Poaceae), *Croton niveus* Jacq. (Euphorbiaceae), *Machaerium robiniaefolium* (DC.) Vogel (Fabaceae) and *Calliandra laxa* (Willd.) Benth. (Fabaceae), were the forest species studied and the grass *Schyzachirium sanguineum* (Retz.) Alston (Poaceae) in the savanna. It was quantified the number of rhizospheric solubilizing fungi and bacteria and AM colonization to establish the role of these organisms on the use of P. pH and the content of, calcium, available P, microbial P, total P and phosphatase activity were significantly higher in the forest rhizosphere. Total and phosphate solubilizing microorganisms were also higher in forest rhizospheres. A higher number of calcium phosphate solubilizing microorganisms was detected in these rhizospheres suggesting an adaptation of soil microorganisms in using phosphate calcium as the dominant form of P in the forest soil. The higher AM % colonization and phosphate solubilizing microorganisms in the forest rhizospheres could represent a mechanism to increase P uptake of more nutrient demanding vegetation.

Palabras clave: micorrizas arbusculares (MA), micorrizósfera, organismos solubilizadores de fosfato, sabana, bosque caducifolio

Keywords: arbuscular mycorrhiza (AM), mycorrhizosphere, phosphate solubilizing microorganisms, savanna, deciduous forest

INTRODUCCION

El P disponible para las plantas se encuentra en muy baja cantidad en la solución del suelo, especialmente en los suelos ácidos y/o neutro calcáreos, en donde está fuertemente fijado en formas insolubles del hierro, aluminio y/o del calcio (López-Hernández, 1977). Estudios previos han demostrado que los hongos y bacterias pueden solubilizar estos compuestos (Illmer, 1995); así, la acción combinada de estos organismos junto con las micorrizas arbusculares (MA) puede favorecer la utilización del P por las plantas, particularmente en suelos ácidos ó pobres en dicho elemento (Toro y col., 1996).

La colonización micorrízica conduce a cambios en la composición mineral y fisiología de los tejidos vegetales, afectando la exudación radical. Estas modificaciones físicas y químicas en el ambiente que rodea a la raíz afectan a las poblaciones microbianas, estableciéndose la micorrizósfera, zona con características microbianas y de exudación diferentes a una raíz no micorrizada (Linderman, 1988). Entre los microorganismos de interés que se desarrollan en esta zona se encuentran las bacterias promotoras de crecimiento vegetal, las cuales desempeñan diferentes funciones como: solubilización de fosfatos, control biológico, producción de hormonas y sustancias de crecimiento.

El interés de este estudio fue conocer la existencia y abundancia de microorganismos capaces de solubilizar fosfatos en la rizósfera de plantas nativas de suelos ligeramente ácidos y/o neutros con escaso contenido de P disponible y en donde la presencia de las MA desempeñaría un papel fundamental en la captación del P para la planta (Azcón-Aguilar y Barea, 1992). En este sentido, resultaría interesante comprobar si dichas poblaciones están funcionalmente adaptadas, para lo cual se investigó su capacidad solubilizadora y mineralizadora de los fosfatos predominantes en dichos suelos: el fosfato cálcico y el fósforo orgánico (como inositol fosfato). Varios autores como Barea y col., (1975) y Toro y col., (1997) sugieren que estos microorganismos interactúan de forma sinérgica con las MA en la captación del P para la planta, especialmente en presencia de fuentes de P poco solubles como la roca fosfórica. Si la población microbiana nativa muestra capacidad de solubilizar las

fuentes de fósforo poco soluble presentes en el suelo nativo, es de suponer que en interacción con las MA, constituirían un mecanismo biológico que facilitaría la nutrición y adaptación de las plantas en dichos suelos. En este trabajo se evaluó la capacidad solubilizadora de fosfatos de poblaciones microbianas de la rizósfera de plantas que se desarrollan en ecosistemas contrastantes, así como la presencia de MA relacionándolas con las formas insolubles del P presentes en el suelo.

MATERIALES Y METODOS

Ecosistemas Estudiados. La zona de estudio se ubica a 480 m.s.n.m. aproximadamente, al centro norte de Venezuela cerca de la localidad de Pardillal, Estado Aragua (9° 55'50"N, 67° 01'37" O). Se seleccionó un bosque decídúo y una sabana abierta ubicados a lo largo de una toposecuencia. El bosque se desarrolla sobre colinas de origen calcáreo pertenecientes a la Formación Guárico y donde se presentan suelos con moderado a alto porcentaje de saturación de bases y moderado contenido de materia orgánica pertenecientes al orden molisol (Soil Survey Staff, 1992). Entre las especies dominantes se encuentran: *Oplismenus hirtellus* (L.) P. Beauv. (Poaceae), *Croton niveus* Jacq. (Euphorbiaceae), *Machaerium robiniaefolium* (DC.) Vogel (Fabaceae), *Calliandra laxa* (Willd.) Benth. (Fabaceae) y *Bourreria cumanensis* (Loefl.) Scultz.

La sabana se ubica en la parte inferior de la secuencia (pie de monte), y en ella predominan suelos entisoles de origen volcánico pertenecientes a la Formación Tiara (González de Juana y col., 1980). Está conformada principalmente por un estrato herbáceo dominado por la especie *Schyzachirium sanguineum* (Retz.) Alston (Poaceae) y en menor proporción por *Hiparrhenia rufa* (Nees) Stapf. El componente leñoso es muy disperso y está representado por *Curatella americana* (L.) y *Byrsonima crassifolia* (H.B.&K). Vale destacar que *Schyzachirium sanguineum* es gramínea tropical nativa, típica de suelos con moderados a alto contenido de calcio (Hernández-Rosas, 1995).

Muestreo. Los muestreos se realizaron en junio de 1999, lo cual coincidió con el período de lluvias

de la región. En el bosque se ubicaron 4 de las especies más representativas identificadas como *Oplismenus hirtellus*, *Croton niveus*, *Machaerium rabiniaefolium* y *Calliandra laxa*. De cada una de estas especies se tomaron muestras de suelo rizosférico superficial (0-10 cm). De forma similar se tomaron al azar 4 muestras de suelo rizosférico de la gramínea dominante *Schizachyrium sanguineum*. Para los análisis microbiológicos y químicos se tomaron tres submuestras de la muestra original, con lo cual cada rizósfera es analizada por triplicado. Para el análisis de parámetros fisicoquímicos del suelo las submuestras se secaron y tamizaron (2 mm). Para las determinaciones microbiológicas y bioquímicas las submuestras se refrigeraron hasta el momento de procesarlas.

Análisis del Suelo

Análisis Fisicoquímicos. En las porciones de las muestras de suelo tamizadas se determinaron los siguientes parámetros: textura, capacidad de intercambio catiónico, porcentaje de materia orgánica, contenido de bases cambiables, porcentaje de saturación de bases (Anderson e Ingram, 1989), fósforo disponible (Pi-bicarbonato), fósforo orgánico lábil (Po-bicarbonato), fósforo microbiano y fósforo total (Hedley y col. 1982), fósforo orgánico total (Saunders y Williams 1955), nitrógeno por oxidación húmeda de Kjeldahl y pH en agua (1:5) (Jackson, 1958). El contenido de las formas de P moderadamente lábiles y resistentes (orgánicas e inorgánicas) y en consecuencia con menor disponibilidad para las plantas (Tiessen y col. 1984) se determinó como la diferencia entre el contenido de P total de dicha fracción (orgánica e inorgánica) y el contenido de P lábil (P-bicarbonato).

Análisis Microbiológicos y Bioquímicos. En las submuestras de suelo rizosférico refrigeradas se determinó la actividad de la enzima fosfomonoesterasa (Tabatabai y Brenner, 1969). Para la determinación de microflora total se tomó 1 g de suelo rizosférico y por diluciones seriadas en solución salina (NaCl, 0.82%) se sembraron distintas diluciones en placas de Petri con el medio Lockheed (Varma, 1998). El medio contenía: inositol fosfato, fosfato cálcico ó roca fosfórica (Riecito con 28.9% de P_2O_5) para evaluar la capacidad de solubilización

de los microorganismos sobre dichas fuentes insolubles. La adición de sulfato de estreptomycin (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y de cicloheximida (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) permitió la cuantificación selectiva de bacterias y hongos por separado. Las placas se incubaron a 28 °C durante cuatro días ó hasta aparecer halos de aclaramiento alrededor de la colonia bacteriana, indicativos de la solubilización del fosfato adicionado. Se contabilizó el número de bacterias y hongos totales que crecían en el medio, así como el número de solubilizadores de bacterias y hongos solubilizadores de cada uno de los fosfatos insolubles, los cuales eran reconocidos por la formación del halo de aclaramiento descrito anteriormente. Los datos se presentan como unidades formadoras de colonias por gramo de suelo rizosférico (ufc/g de suelo rizosférico). Se tomaron las raíces secundarias de cada una de las especies descritas y se les aplicó la tinción con azul de tripán (Phillips & Hayman, 1970). Posteriormente se cuantificaron al microscopio mediante el método de la cuadrícula (Giovannetti & Mosse, 1980). Se cuantificaron las esporas de hongos MA en cada una de las rizósferas aislándolas mediante la metodología de tamizado húmedo y decantación (Schenck, 1982).

Análisis Estadísticos. Se hizo una comparación de las medias poblacionales para verificar la diferencias entre las mismas utilizando la prueba de U Mann-Whitney.

RESULTADOS

Las rizósferas estudiadas mostraron diferencias significativas en cuanto al contenido de materia orgánica y calcio, siendo superiores en los suelos del bosque (Tabla 1). Asociado a los elevados contenidos de calcio y la muy baja actividad del aluminio intercambiable en el bosque (no detectado con el método utilizado), el suelo presenta un pH ligeramente alcalino de 7.4. En contraste, los suelos de la sabana muestran un pH ligeramente ácido (6.2) debido a mayores contenidos de aluminio intercambiable y moderados contenidos de calcio. Los contenidos de P disponible y P microbiano también fueron superiores en los suelos del bosque, hecho que puede relacionarse con el pH, los mayores contenidos de materia orgánica (Tabla 2) y con condiciones microclimáticas más favorables.

Tabla 1. Caracterización química del suelo rizosférico de los ecosistemas estudiados.

Parámetro	Sabana	Bosque
Textura	Franco	Franco
pH (H2O 1:5)	6.28a	7.42b
% Materia orgánica	2.79a	4.84b
Capacidad Intercambio Catiónico (CIC)	13.88a	20.63b
Nitrógeno Total (%)	0.19a	0.2b
Ca (cmol/kg suelo)	3.23a	11.63b
Magnesio (cmol/kg suelo)	2.54a	3.31b
Potasio (cmol/kg suelo)	0.14a	0.20b
Sodio (cmol/kg suelo)	0.02a	0.03b
Hierro libre (cmol/kg de suelo)	0.02a	0.02b
Capacidad de intercambio catiónico (cmol/kg de suelo)	13.88a	20.63b
Porcentaje de saturación de bases	42.8a	73.5b
Actividad fosfática ($\mu\text{g pNF/gh}$)	324.8a	119.7b

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para cada parámetro (U Man-Whitney $P < 0.05$)

Sin embargo, en ambos ecosistemas las formas de P disponible fueron bajas y representan menos del 2% del P total. Por su parte, la actividad fosfática mostró valores significativamente mayores en las rizósferas de la sabana, lo que puede estar relacionado con menores contenido de P disponible.

En cuanto a la microflora, se obtuvo que el número total de hongos y bacterias fue mayor en las rizósferas del bosque (Fig. 1 y 2). Al menos 11 % del total de bacterias de las rizósferas de sabana mostraron capacidad de solubilizar los fosfatos insolubles ensayados. En el bosque las bacterias solubilizadoras de fosfato cálcico y mineralizadoras de inositol fosfato fueron más numerosas alcanzando hasta un 22% (Figura 1). Dentro de la población total de hongos en la sabana, al menos un 11% mostró capacidad de solubilizar y mineralizar las fuentes de fósforo insolubles predominantes en el sistema: el fosfato cálcico y el fósforo orgánico (inositol fosfato). Para el bosque estos valores fueron 38 y 46 %, respectivamente (Figura 2).

La longitud de raíz colonizada por MA (% LRM) alcanzó valores de 48 % en las raíces de *S. sanguineum*, especie predominante de la sabana. El número de esporas registrado en ésta rizósfera fue de 596/100 g suelo. En el bosque, el valor promedio de %LRM fue de 67% y el número promedio de esporas fue 436/100 g suelo (Tabla 3).

DISCUSION

El fraccionamiento de fósforo en la rizósfera de los dos ecosistemas, mostró que el contenido de P total es superior en el bosque debido a la contribu-

Tabla 2. Fracciones de fósforo presentes en las rizósferas de las especies de los ecosistemas de sabana y bosque estudiados $\mu\text{g/g}$

Formas de fósforo		Sabana	Porcentaje respecto al P total	Bosque	Porcentaje respecto al P total
Inorgánico	Lábil (P-Bic)	2,87a	1,7	4,04b	1,7
	Otras formas moderadamente lábiles y resistentes	78,22a	47,4	150,91b	63,0
	Total	81,09a	49,1	154,95b	64,7
Orgánico	Lábil (P-Bic)	11,17a	6,8	9,05a	3,8
	Otras formas moderadamente lábiles y resistentes	72,69a	44,1	75,70a	31,5
	Total	83,86a	50,9	84,73a	35,3
Total		164,95a	100	239,68b	100
Fósforo microbiano		8,06a	4,9	15,89b	6,6

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para cada parámetro (U de Mann-Whitney $P < 0,05$)

Tabla 3. Número de esporas de hongos MA /100 g suelo rizosférico y % longitud de raíz micorrizada en las especies de sabana y bosque estudiadas

	Sabana	Bosque
No. de esporas /100 g suelo	596 a	436 b
% longitud de raíz micorrizada (%LRM)	48 a	67 b

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para cada parámetro (U de Mann Whitney, $P < 0,05$)

ción de las formas de P inorgánicas moderadamente lábiles y resistentes, hecho posiblemente asociado a la presencia de fosfatos de calcio, en virtud de la naturaleza calcárea de estos suelos (Tabla 2). Por su parte, el contenido de P disponible en ambos casos fue bajo, mientras que el total de las formas lábiles (P disponible y Po lábil) de más fácil acceso a las plantas, concentraron menos del 10% del P total. De estos resultados es evidente la importancia de los microorganismos como catalizadores de la mineralización fósforo orgánico y la solubilización de otras fuentes inorgánicas resistentes (P-Ca, P-Fe y P-Al). En este sentido cabe destacar, el mayor número de solubilizadores de fosfato cálcico detectado en el suelo calcáreo (bosque), lo que sugiere que los microorganismos rizosféricos dominantes estarían adaptados a utilizar las formas de P asociadas a este sustrato.

La mineralización del P orgánico es mediada por fosfatasas producidas por la raíz, los microorganismos

mos y/o la mesofauna del suelo. La activación de estas enzimas ocurre como respuesta al aumento de la demanda de P por la vegetación o los microorganismos, mientras que su actividad disminuye cuando existe un suministro adecuado (McGill y Cole 1981; Singh y col., 1991), es por ello que se ha utilizado la actividad fosfatásica como índice para estimar estrés por deficiencia de P (Ascencio, 1997). Así, en las rizósferas de las sabanas, la mayor actividad de fosfatasas ácidas podría atribuirse al menor contenido de P disponible y una mayor demanda por parte de la vegetación, la cual se desarrolla sobre suelos poco profundos (<15 cm de profundidad). Otro factor, que no debe obviarse es que la sabana presenta valores de pH ligeramente ácido que favorece la actividad de las fosfatasas ácidas (Tabatabai y Bremmer, 1969).

La presencia de raíces finas y muy ramificadas no afectó la presencia de MA en la especie *S. sanguineum*. El porcentaje de LRM para esta especie fue de 48%, mostrando tendencias similares a las registradas por St. John y Uhl (1983) para *Panicum pilosum* (55%) y levemente superiores en relación a *Andropogon bicornis* (30%), gramíneas nativas de sabanas del Amazonas venezolano. Las especies del bosque mostraron en promedio un 67% de LRM, valor ligeramente inferior al 100% y 89 % registrados para la caatinga amazónica por St. John y Uhl (1983) y Moyersoen (1993) respectivamente; y similar al 66% reportado para el bos-

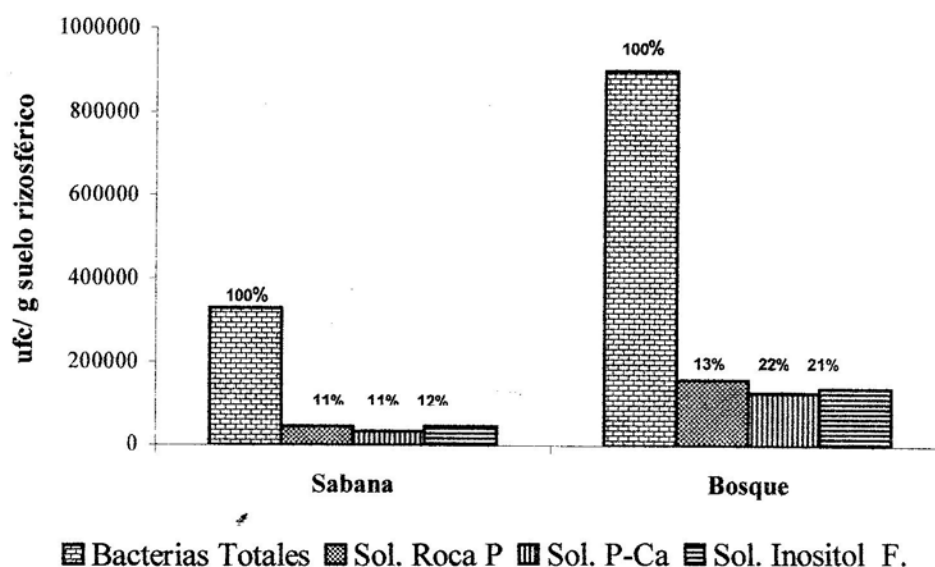


Figura 1. Bacterias totales y solubilizadoras de fosfatos en las rizósferas de bosque y sabanas estudiadas.

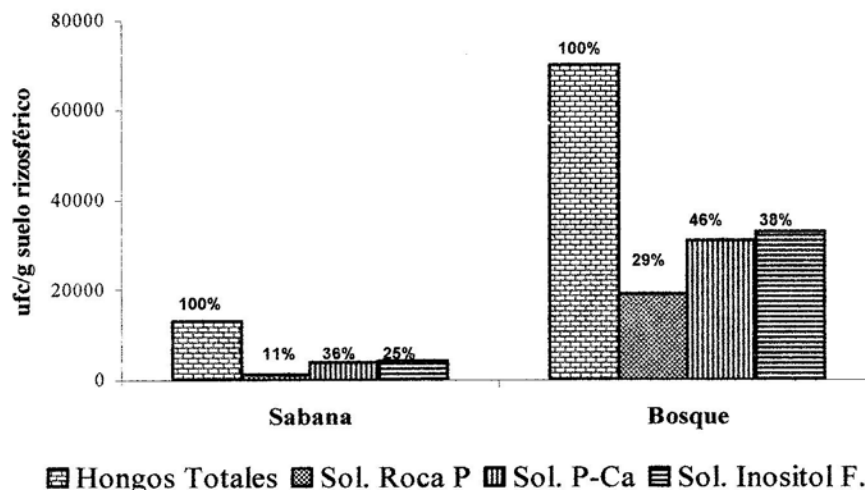


Figura 2. Hongos totales y solubilizadores de fosfatos en las rizósferas de bosque y sabanas estudiadas.

que de Tierra Firme del Amazonas venezolano (St. John y Uhl, 1983). La simbiosis micorrízica es importante en el establecimiento de las especies y formación de los bosques (Janos, 1980), lo cual es corroborado por los valores de % LRM promedio registrados en este trabajo. Sin embargo, una mejor aproximación en este sentido se obtendría con estudios de un mayor número de individuos por especie y más especies autóctonas del bosque seco. En ambos ecosistemas se registró un importante número de esporas de hongos MA el cual es uno de los propágulos formadores de esta simbiosis, junto con las raicillas colonizadas por MA y el micelio de hongos MA (HMA) externo a las raíces. Dado que las esporas no son el único propágulo infectivo de las MA con capacidad colonizadora, este parámetro no siempre correlaciona con el grado de colonización de las raíces (Smith y Read, 1997), por lo que se sugiere profundizar más a este respecto, determinando la importancia de cada uno de los propágulos infectivos mencionados en los distintos ecosistemas.

Son escasos los trabajos que relacionan la funcionalidad de las poblaciones microbianas con la utilización del P en ecosistemas naturales. En este sentido cabe destacar el trabajo de Vázquez y col., (2000), quienes encuentran organismos solubilizadores de fosfato cálcico en la rizósfera de mangles

considerándolo como posible adaptación de estas especies vegetales a ambientes pobres en P. Esto pudiera asumirse en los ecosistemas estudiados en este trabajo. Los altos valores de porcentaje de LRM y de organismos solubilizadores de fosfato cálcico y mineralizadores de fosfato registrados en el bosque, constituirían un mecanismo que incrementaría la absorción de P por parte de una vegetación con mayor demanda de este elemento.

CONCLUSIONES

Los ecosistemas estudiados se caracterizan por una baja disponibilidad de P y una proporción mayoritaria de formas moderadamente lábiles y resistentes, que no son accesibles a las plantas en el corto plazo (Tiessen y col. 1984). En esta situación se manifiesta la importancia de los organismos mineralizadores y solubilizadores que permitirían a las plantas disponer de P proveniente de aquellas fuentes más resistentes. El estudio muestra que en las rizósferas de ambos ecosistemas existe una flora microbiana capaz de solubilizar fosfatos inorgánicos y mineralizar fosfatos orgánicos, aunado a ello el sistema radical se encuentra fuertemente colonizado por MA, escenario en donde puede existir una sinergia efectiva entre organismos solubilizadores y MA, que redundaría en la nutrición

de P. Los suelos del ecosistema de bosque son los más favorables para el desarrollo de los microorganismos solubilizadores de fosfatos; ya que en éste, la abundancia relativa de hongos solubilizadores fue mayor que la de bacterias para los tres fosfatos ensayados. La mayor actividad de la enzima fosfatasa ácida en la sabana pudo ser inducida por los bajos contenidos de P inorgánico

y la existencia de un pH ligeramente ácido que favorecen su actividad.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Consejo Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la UCV, Proyecto N° 03-31-4109-2000.

LITERATURA CITADA

- ASCENCIO, J.
1997. Root secreted acid phosphatase kinetics as a physiological marker for phosphorus deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 20: 9-26.
- ANDERSON, J. M. Y J. S. I. INGRAM
1989. Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods. *CAB International*, UK, 171 pp.
- AZCON-AGUILAR, C. Y J. M. BAREA
1992. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. En: Allen, M. (Ed.) *Mycorrhiza Functioning: an integrative plant-fungal process*. Chapman & Hall, New York, pp. 163-198.
- BAREA, J. M., AZCON, R. Y D. HAYMAN
1975. Possible synergistic interactions between endogone and phosphate-solubilizing bacteria in low-phosphate soils. En: F.E. Sanders, B. Mosse & P.B. Tinker (Eds.) *Endomycorrhizas*. Acad. Press, London, pp. 409-417.
- GONZALEZ DE JUANA, C. ITURRALES, J. Y X. PICAND
1980. *Geología de Venezuela y sus cuencas petrolíferas*. Ediciones Foninves. Caracas. Venezuela. 407 pp.
- GIOVANNETTI, M. Y B. MOSSE
1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500.
- HEDLEY, M. J., STEWART, J. W. B. Y B. S. CHAUHAN
1982. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society American Journal*, 46: 970-976.
- HERNANDEZ ROSAS, J. I.
1995 Relaciones funcionales de las comunidades herbáceas de la región de "El Salao", sur-oriente del estado Guárico, Venezuela. Tesis Doctoral, Postgrado en Ecología, Universidad Central de Venezuela, 322 pp.
- ILLMER, P.
1995. Solubilization of hardly soluble AlP₀₄ with P-solubilizing microorganism. *Soil Biology Biochemistry*, 27: 265-270.
- JACKSON, M. L.
1958. *Análisis químico de los suelos*. Ediciones Omega, 4ta edición, Barcelona, España, 662 pp.
- JANOS, D.
1980. Vesicular-Arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. *Ecology*, 61: 151-162.
- LINDERMAN, R.
1988. Mycorrhizal interaction with the rhizosphere microflora: The mycorrhizosphere effect. *Phytopathology*, 78: 488-505.
- LOPEZ-HERNANDEZ, D.
1977. *La química del fósforo en suelos ácidos*. Ediciones de la Biblioteca de la Universidad Central de Venezuela. Caracas, 123 pp.
- MC GILL, W. B. Y C. V. COLE
1981 Comparative aspects of C, N, S and P cycling through soil during pedogenesis. *Geoderma*, 26: 267-286.
- MOYERSON, B.
1993. Ectomicorrizas y micorrizas arbusculares en la Caatinga Amazónica al sur de Venezuela. *Scientia Guianae*, 3, 82 pp.
- MURPHY, J. Y J. P. RILEY
1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27: 31-36.
- PHILLIPS, J. M. Y D. HAYMAN
1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transaction of British Mycological Society*, 55: 158-160.
- SAUNDERS, W. M. H. Y E. G. WILLIAMS
1955. Observations on the determination of total organic phosphorus in soils. *Journal of Soil. Science*, 6: 254-257.
- SCHENCK, N. C.
1982. *Methods and principles of mycorrhizal research*. The American Phytopathological Society, St. Paul, 210 p.
- SINGH, R. H., SRIVASTAVA, S. C. Y R. RAGUBANSHI
1991. Microbial C, N and P in dry tropical savanna: effects of burning and grazing. *Journal of Applied Ecology*, 28: 869-878.
- SMITH, S. Y D. READ
1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. 2da Edición. Academic Press, 605 pp.

SOIL SURVEY STAFF

1992. *Keys to soil taxonomy*. USDA. 6ta edición. Washington. 305 pp.

ST. JOHN, T.V. Y C. UHL

1983. Mycorrhizae in the rain forest at San Carlos de Río Negro, Venezuela. *Acta Científica Venezolana*, 34: 233-237.

TABATABAI, M.A. Y J.A. BRENMER

1969. Use of p-nitrohenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1: 301-307.

TIESSEN, H., STEWART, J. W. B. Y C. V. COLE

1984. Pathways of phosphorus transformations in soils of differing pedogenesis. *Soil Science American Society*, 48: 853-858.

TORO, M., AZCON, R. Y R. HERRERA

1996. Effects on yield and nutrition of mycorrhizal and nodulated *Pueraria phaseoloides* exerted by P-solubilizing rhizobacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 21: 23-29.

TORO, M., AZCÓN, R. Y J.M. BAREA

1997. Improvement of arbuscular mycorrhizal development by inoculation with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bio-availability (32P) and nutrient cycling. *Applied Environmental Microbiology*, 63: 4408-4412.

VARMA, A.

1998. *Mycorrhiza Manual*. Springer-Verlag, Berlin, 542 pp.

VAZQUEZ, P., HOLGUIN, G., PUENTE, M.E., LOPEZ-CORTES, A. Y Y. BASHAN

2000. Phosphate solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology and Fertility of Soils*, 30: 460-468.