

## EFECTO DE VARIOS INOCULOS DE LEGUMINOSAS SOBRE SOYA Y FRIJOL

Hernando Prieto\*

Orlando Agudelo\*\*

Raúl Varela G.\*\*

## COMPENDIO

El estudio se realizó en el Instituto Colombiano Agropecuario-ICA en Palmira, durante los semestres 87B y 89B. Todas las especies nodularon a partir de los primeros 15 días después de emergencia, exceptuando *Cassia tora*. El resto de materiales presentaron nódulos efectivos. La posición de los nódulos fue en toda la raíz menos en las variedades de fríjol que sólo los presentaron en las raíces secundarias. La forma fue globosa excepto en *Crotalaria* (ovales, astragaloides y en forma de bastón) y el tamaño fue pequeño (hasta 2.5 mm de diámetro) excepto en soya (5 mm). En otro ensayo se probaron en soya y fríjol las cepas aisladas de Rizobios de soya, fríjol, maní, frijolillo, *Desmodium*, *Crotalaria* y mungo. La soya únicamente noduló con su cepa específica, mientras que el fríjol lo hizo con todas las cepas, por lo cual se recomienda que se hagan evaluaciones de fijación de nitrógeno en esta especie con otras cepas para conocer la respuesta.

## ABSTRACT

## EFFECT OF SEVERAL STRAINS OF RIZOBIUM IN SOYBEAN AND DRY BEANS

A study was carried out of the Instituto Colombiano Agropecuario-ICA of Palmira between the second semester of 1987 and second of 1989 with the objective to see of nodulation form and the response of soybean and beans to seven strains of Rizobium of soybean, beans, mungobean, caupí, peanuts, *crotalaria* and *Desmodium*. All of species nodulated after 15 days of emergence also, the nodules lasted in all of especies up to 60 days after emergence except in beans which deteriorated nodules were evident after flowering. The position of nodules were in the main root and secundaries except for beans that only presented nodules in secondary roots; besides, all species presented global shapes nodules except for *Crotalaria* which showed oval, astragal and baton shape. The size was small in all especies, however, soybean presented big nodules so as 5 mm of diameter. The soybean nodulated specifically with its strain; however, beans presented effective nodulation with other strains suggesting gesting a wide types strains for this legume and permitting more studies about it.

## 1. INTRODUCCION

Las leguminosas se presentan como alternativa para ayudar a resolver el déficit protéico y la desnutrición que afectan a la zona tropical del globo terraqueo. Sin embargo, se hace necesario un buen suministro de nitrógeno a las leguminosas, ya sea mediante la aplicación de fertilizantes o mediante la nodulación de cepas eficientes de rizobio para cada especie, siendo este último método el más económico. Por esto, se hace necesario el conocimiento del tipo de nodulación y su eficiencia en cuanto a fijación de nitrógeno.

Raramente un nódulo contiene más de una cepa de bacterias, pero la raíz de leguminosas, en cambio, pueden llevar nódulos de diferentes cepas. Exteriormente los nódulos pueden ser lisos, costrosos, esculpidos y estriados; e interiormente su color puede ser rosado, blanco, café o verde entre otros (Vargas de Roza, 1969). Los patrones de nodulación se pueden agrupar en tres modelos: en corona (de raíz principal, por encima de la primera raíz lateral) más baja (de raíz principal, por debajo de la primera raíz lateral) y nodulación de raíz lateral (raíces secundarias). (Lange y Parker, 1960).

\* estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. A.A. 237, Palmira

\*\* Instituto Colombiano Agropecuario-ICA. A.A. 233, Palmira.

Para el género *Centrosema* (Bowen, 1959) el mayor valor del peso y número de nódulos por planta por día se encontró a los 61 días (78 nódulos/planta, 0203 g). El número de nódulos varía según la especie del género *Leucaena*: *L. diversifolia*, 15.83 nód/planta ; *L. lanceolata* 20.58 nód/planta y *L. leucocephala* 15.41 nód/planta (Halliday y Somasegaran, 1982). En *L. leucocephala* el peso promedio de nódulos fue de 476.11 mg a los 90 días después de emergencia (Sankpal y Konde, 1985).

La fijación de N/ha en algunas especies se ha estimado en los siguientes valores: en soya, 60.2 kg en un período entre 43-76 días de su ciclo; en frijol, 27.7-35.2 kg; *Centrosema* vichada, 90-400 kg/año; *L. leucocephala*, 30-100 kg/año; *Desmodium* sp , 300 kg/año, *Sesbania* 500 kg/año.

El trabajo tuvo como objetivo dar a conocer el tipo y la forma de nodulación de leguminosas de cultivo y leguminosas malezas de campos del Valle del Cauca, además de aislar cepas de rizobio de leguminosas para posteriormente inocular en frijol y soya, para ver la respuesta de ellas a estos inóculos nativos.

## 2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### 2.1. Generalidades

El trabajo se llevó a cabo en el Instituto Colombiano Agropecuario-ICA Palmira, con las siguientes especies y variedades: soya (ICA Tunfa, Soyica P-31 y Soyica P-33), fríjol (Diacol Calima, ICA Bunsí e ICA Pijao), Cowpea (Cabecita Negra e ICA Menegua), mungo Vignica T-11, maní Tatuí 76, *Crotalaria* sp, *Cassia tora* (Chilin chili), *Macrotilium latiroides* (Frijolillo) y *Desmodium* sp.

### 2.2. Ensayo 1

El experimento se localizó en un lote con pH de 7.3. La parcela experimental correspondió a 12 surcos de 10 m de largo, separados 1 m, y 10 cm entre plantas. Se utilizó el diseño de bloques al azar con 3 repeticiones.

Las muestras de nodulación se tomaron 3 veces por semana antes de floración y una vez cada quince días en el llenado de vainas. En cada muestreo se extraían 2 plantas por tratamiento con el máximo de raíces posibles; la evaluación se hizo inmediatamente con base en los trabajos del CIAT (1985) y Cordeiro (1987) y se utilizó el microscopio para las observaciones.

En este ensayo no se sembró ni *Macrotilium latiroides* ni *Desmodium* sp.

Las variables evaluadas fueron: nodulación en raíz principal y raíces secundarias, número de nódulos por planta, tamaño y forma de nódulos (Fig. 1) por planta, y color interno predominante.

### 2.3. Ensayo 2

En el invernadero, se inoculó la soya Soyica P-31 con *Rhizobium japonicum* y el fríjol Diacol Calima con *Rhizobium phaseoli*, con el propósito de comprobar las respectivas cepas.

Las plantas se sembraron en materas de 3 kg en dos bloques (1 por tratamiento); cada bloque con 3 hileras de 4 materas, más otra hilera como testigo (no inoculada). Se colocaron 3 semillas por matera. El suelo utilizado se trajo de la Zapata, Palmira y se esterilizó en autoclave.

Se tomaron muestras de raíz en el momento de la floración, mirando únicamente si hubo o no nodulación y si esta fue efectiva.

### 2.4. Ensayo 3

En el invernadero se inocularon Soyica P-31 y Fríjol Diacol Calima con cepas de soya, fríjol, mungo, maní, frijolillo, *Desmodium* y *Crotalaria*. Se sembraron 4 semillas por matera. El diseño utilizado fue bloqueo al azar, con 4 repeticiones, para un total de 32 materas por especie incluyendo el tratamiento testigo (no inoculado).

El suelo utilizado se trajo de la Zapata, Palmi-

ra, fue esterilizado en el CIAT a vapor húmedo, a una temperatura de 90°C durante 8 horas.

Para preparar el inóculo se maceraron nódulos esterilizados, con alcohol, hipoclorito de Na y agua estéril, en una caja de petri, con medio levadura Manitol Agar (LMA) y se estirió en ella con un aza. Las cajas de petri se incubaron a 28°C, se esperó el crecimiento del rizobio, trasladándose a otra caja de petri con LMA. Se repitió este paso 4-5 veces hasta obtener una colonia purificada. Para inocular se diluyó cada caja de petri en 100 ml de agua estéril y se aplicó al suelo a razón de 1 ml por planta. Las variables evaluadas fueron las mismas del ensayo 1.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSION**

#### **3.1. Forma de nodulación**

En los Cuadros 1,2,3 y 4 se encuentra la tendencia de la nodulación en los 11 materiales estudiados en las cuatro fases. *Cassia tora* en ninguna fase presentó nodulación.

Las 3 variedades de soya (Soyica P-31, Soyica P-33 e ICA Tunfa) presentaron nodulación en la raíz principal y en raíces secundarias, mostrando lo que Lange y Parker (1960) denominaron nodulación más baja y nodulación lateral.

En fríjol Diacol Calima la nodulación fue lateral, con un solo nódulo en la raíz principal en la fase de emergencia. Los fríjoles ICA Bunsí e ICA Pijao presentaron en todo su ciclo nodulación de raíz lateral.

Las dos variedades de caupí, el mungo, el maní y la crotalaria presentaron nodulación más baja y nodulación de raíz lateral durante todo su ciclo.

#### **3.2. Tiempo de aparición de nódulos**

Soyica P-31, P-33 e ICA Tunfa iniciaron su nodulación en la etapa de emergencia (0-15 DDE (Días después de la emergencia)).

En este momento los nódulos fueron blancos. Los nódulos efectivos (rosados) aparecieron al final de la fase vegetativa en Soyica P-31 (16-28 DDE), mientras que en Soyica P-33 e ICA Tunfa aparecieron a partir de los 29 días después de emergencia (inicio de floración).

Para los tres cultivares de soya, el degeneramiento del nódulo empezó a partir del día 50 (Figura 2), coincidiendo con el trabajo de Carlson (1987). Este degeneramiento se identificó por la superficie arrugada del nódulo, su blandura y necrosis, signos anotados por Allen y Allen (1950).

Los fríjoles Diacol Calima, ICA Bunsí e ICA Pijao iniciaron nodulación en la etapa de emergencia, mostrando nódulos de color interno tanto blancos como rosados. Para las 3 variedades de fríjol, el degeneramiento del nódulo empezó a partir del día 37 (inicio de vainas) (Figura 3), debido a que la planta concentra la movilización de nutrientes hacia la formación del grano, lo cual hace que la formación del tejido activo de los nódulos disminuya notoriamente, hasta detenerse (Belalcazar, 1977). El degeneramiento del nódulo presentó los mismos signos que en la soya, pero la duración de los mismos fue más rápida impidiendo posiblemente un suministro adecuado de N.

Para el caupí la nodulación se inició desde los primeros 15 DDE, mostrando nódulos blancos y rosados. El comportamiento fue igual durante el resto de su ciclo de vida, predominando a partir del día 29 los nódulos efectivos para ambas variedades (Figura 4).

El mungo, el maní y la Crotalaria iniciaron nodulación desde la etapa de emergencia. El mungo y el maní presentaron en esta etapa únicamente nódulos blancos, a diferencia de la Crotalaria que presentó nódulos blancos y rosados. Ya en la etapa vegetativa, el mungo y el maní mostraron nódulos efectivos, además de no efectivos (Figura 4).

La crotalaria presentó, desde los 16 hasta los 55 DDE, nódulos rosados predominantemente. El maní y el mungo presentaron nódulos rosados

Cuadro 1

Efecto del tiempo en la nodulación de leguminosas durante la emergencia (0-15 días), en condiciones de campo. Palmira, 1987

Especie	Abundancia Nod./planta	Tamaño	Forma	Nodulación raíz ppal	Color interno
Soyica P-31	3	Nód. en formación	Globo	2	Blanco
Soyica P-33	7	Nód. pequeños	Globo	5	Blanco
ICA Tunía	1	Nód. en formación		1	
Diacol Calima	8	Pequeños	Globo	1	Blanco
ICA Bunsi	8	Pequeños	Globo	Sin nódulos	Rosado, Blanco
ICA Pijao	7	Pequeños	Globo	Sin nódulos	Rosado, Blanco
Cabecita Negra	3	Pequeños	Globo	Sin nódulos	Rosado, Blanco
ICA Menegua	6	En formación pequeños, medianos	Globo y oval	3	Blanco y Rosado
Vignica T-11	5	En formación pequeños, medianos	Globo	4	Blanco
Tatuf 76	10	Pequeños	Globo	8	Blanco
Crotalaria	11	Formación, pequeños	Globo	7	Blanco, Rosado

Cuadro 2

Efecto del tiempo en la nodulación de leguminosas en la fase vegetativa (16-28 días), en condiciones de campo. Palmira, 1987

Especie	Abundancia Nod./planta	Tamaño	Forma	Nodulación raíz ppal	Color interno
Soyica P-31	9	Pequeño	Globo	3	Rosado, blanco
Soyica P-33	10	Pequeño	Globo	7	Blanco
ICA Tunfa	6	Pequeño	Globo	3	Blanco
Diacol Calima	9	Pequeño	Globo	sin nódulo	Blanco
ICA Bunsí	10	Pequeño	Globo	sin nódulo	Blanco
ICA Pijao	9	Pequeño	Globo	sin nódulo	Blanco
Cabecita Negra	22	Mediano	Globo	13	Blanco, Rosado
ICA Menegua	17	Pequeño	Globo	9	Blanco, Rosado
Vignica T-11	5	Pequeño	Globo	5	Blanco, Rosado
Tatuf 76	25	Pequeño	Globo	15	Blanco, Rosado
Crotalaria	19	Pequeño	Globo	13	Rosado

Cuadro 3

Efecto del tiempo en la nodulación de leguminosas durante la floración (29-36 días), en condiciones de campo. Palmira, 1987

Especie	Abundancia Nod./planta	Tamaño	Forma	Nodulación raíz ppal	Color interno
Soyica P-31	11	Mediano, pequeño	Globoso	3	Blanco, Rosado
Soyica P-33	15	Mediano, pequeño	Globoso	8	Blanco, Rosado
ICA Tunfa	9	Mediano, pequeño	Globoso	5	Rosado
Diacol Calima	8	Pequeño	Globoso	sin nódulos	Blanco
ICA Bunsi	4	Pequeño	Globoso	sin nódulos	Rosado
ICA Pijao	4	Pequeño	Globoso	sin nódulos	Rosado
Cabecita Negra	18	Mediano, pequeño	Globoso	2	Rosado
ICA Menegua	4	Pequeño	Globoso	1	Rosado
Vignica T-11	3	Pequeño	Globoso	sin nódulos	Rosado
Tatuf 76	28	Pequeño	Globoso	15	Rosado
Crotalaria	13	Pequeño	Globoso, oval	8	Rosado

Cuadro 4

Efecto del tiempo en la nodulación de leguminosas durante el llenado de vainas (37-55 días), en condiciones de campo. Palmira, 1987

Especie	Abundancia Nod./planta	Tamaño	Forma	Nodulación raíz ppal	Color interno
Soyica P-31	13	Mediano, pequeño	Globoso	5	Rosado
Soyica P-33	10	Mediano, pequeño	Globoso	4	Rosado
ICA Tunfa	10	Mediano, pequeño	Globoso	4	Rosado
Diacol Calima	sin nódulos				
ICA Bunsi	sin nódulos				
ICA Pijao	sin nódulos				
Cabecita Negra	4	Pequeño	Globoso	1	Rosado
ICA Menegua	3	Pequeño	Globoso	sin nódulo	Rosado
Vignica T-11	2	Pequeño	Globoso	sin nódulo	Rosado
Tatuf 76	2	Pequeño	Globoso	sin nódulo	Rosado
Crotalaria	14	Pequeño	Globoso, oval, bastón, Astragaloide	9	Rosado

Cuadro 5

Nodulación de la soya con *Rhizobium japonicum* y del frijol con *Rhizobium phaseoli* al momento de la floración. Palmira, 1988

Soya	Abundancia Nódulos	Color interno	Frijol	Abundancia Nódulos	Color
1a. Rep.	10	Blanco, rosado	1a. Rep.	7	Blanco, Rosado
2a. Rep.	8	Blanco, rosado	2a. Rep.	9	Blanco, Rosado
3a. Rep.	11	Blanco, rosado	3a. Rep.	12	Blanco, Rosado
Testigo	sin nódulos		Testigo	sin nódulos	



Cuadro 6  
 Nodulación de la soya con siete inóculos de leguminosas al momento de la floración. Palmira, 1989

Inóculo	Abundancia Nódulos	Nodulación Rafz principal	Color interno		
			Rosado %	Blanco %	Otros % café, verde
Soya	12	1	100		
Frijol	4	1	5	85	10
Maní	3	sin nódulos		100	
Frijolillo	7	sin nódulos	10	70	30
Desmodium	9	sin nódulos	16	84	
Crotalaria	4	sin nódulos	13	67	20
Mungo	14	1	14	86	
TESTIGO					
No inculado	sin nódulos				

Cuadro 7  
 Nodulación de la soya con siete inóculos de leguminosas al momento del llenado de vainas. Palmira, 1989

Inóculo	Abundancia Nódulos	Nodulación Raíz principal	Color interno			
			Rosado %	Blanco %	Otros % café, verde	
Soya	22	sin nódulo	22	22	56	
Frijol	19	sin nódulo		54	46	
Maní	16	1		44	56	
Frijolillo	18	sin nódulo		27	73	
Desmodium	14	1		100		
Crotalaria	18	sin nódulos		62	38	
Mungo	17	2	11	33	56	
TESTIGO						
No inculado	sin nódulos					

Cuadro 8

Nodulación del frijol con siete inóculos de leguminosas al momento de la floración. Palmira, 1989

Inóculo	Abundancia Nódulos	Nodulación Raíz principal	Color interno		
			Rosado %	Blanco %	Otros % café, verde
Soya	29	sin nódulos		100	
Frijol	12	sin nódulos	89	11	
Maní	27	sin nódulos	75	25	
Frijolillo	21	sin nódulos	62.5	25	12.5
Desmodium	34	sin nódulos	87	13	
Crotalaria	31	sin nódulos	14		86
Mungo	3	sin nódulos	80	20	
TESTIGO					
No inculado	12	sin nódulos	27	73	

Cuadro 9

Nodulación del frijol con siete inóculos de leguminosas al momento del llenado de vainas. Palmira, 1989

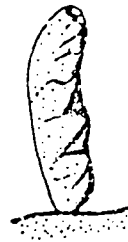
Inóculo	Abundancia Nódulos	Nodulación Raíz principal	Color interno		
			Rosado %	Blanco %	Otros % café, verde
Soya	31	sin nódulos	Nódulos	en	deterioro
Frijol	16	sin nódulos	Nódulos	en	deterioro
Maní	17	sin nódulos	Nódulos	en	deterioro
Frijolillo	16	sin nódulos	Nódulos	en	deterioro
Desmodium	19	sin nódulos	Nódulos	en	deterioro
Crotalaria	22	sin nódulos	Nódulos	en	deterioro
Mungo	10	sin nódulos	Nódulos	en	deterioro
TESTIGO					
No inculado	sin nódulos				



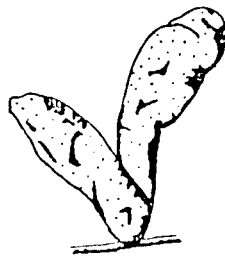
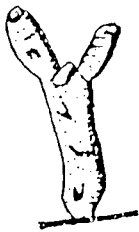
GLOBOSO



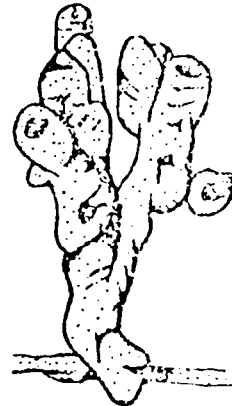
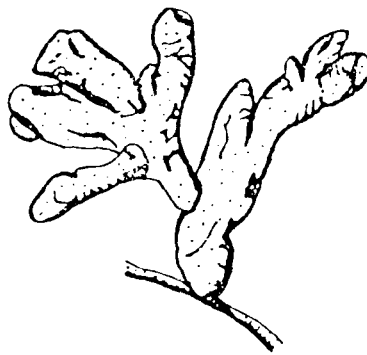
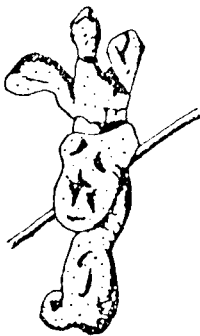
OVAL



EASTON



ASTRAGALOIDE



CROTALARIOIDE

Fig. 1. Clasificación de la forma de los nódulos según Cordeiro (1987).

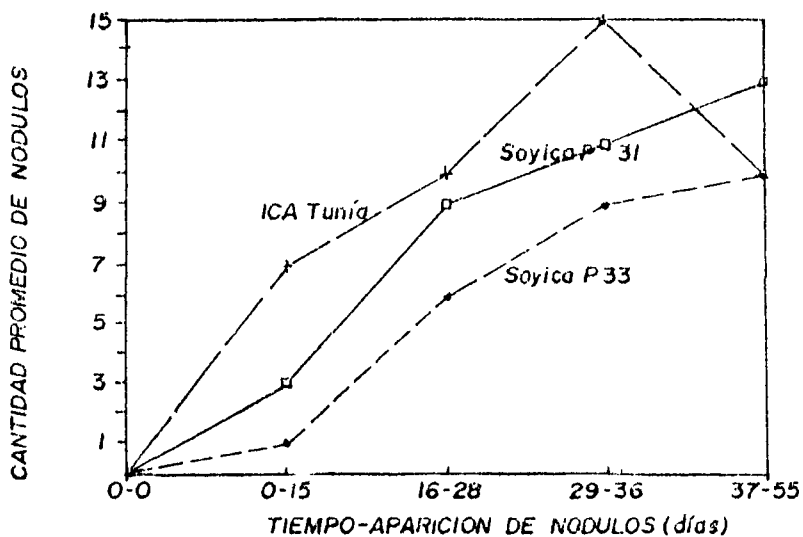


Fig. 2. Tendencia de nodulación en soya

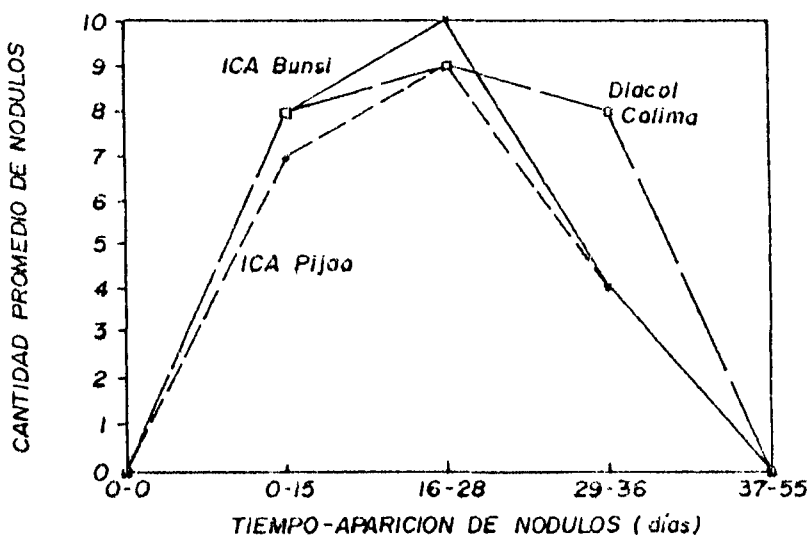


Fig. 3. Tendencia de nodulación en frijoles

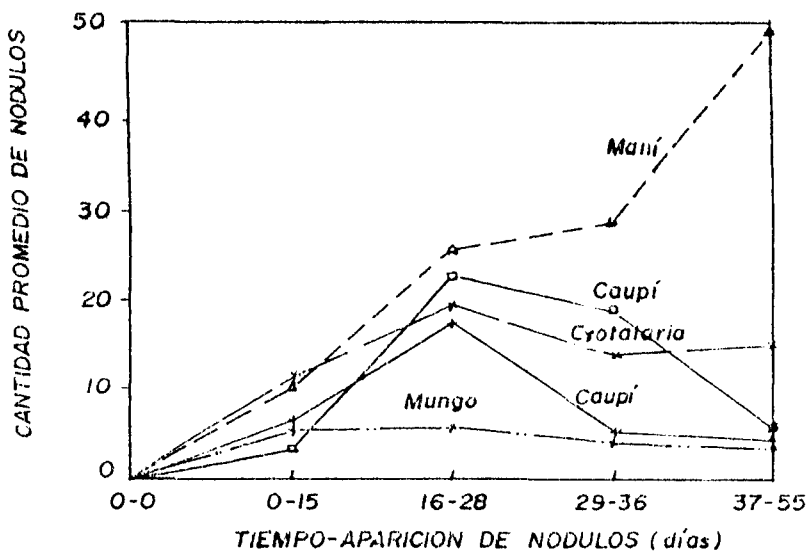


Fig. 4. Tendencia de nodulación en algunas leguminosas

prevalentemente, solo a partir del día 29 hasta el final del ensayo (Figura 4).

### 3.3. Tamaño y forma de nódulos

Las variedades de soya presentaron nódulos pequeños en las fases de emergencia y vegetativa (2.0 mm de diámetro), en la floración y llenado de vainas presentaron nódulos medianos o grandes (5 mm de diámetro), coincidiendo con los trabajos de Carlson (1987).

Para los fríjoles los nódulos fueron siempre de tamaño pequeño, 1.5 mm de diámetro. El caupí Menegua presentó nódulos pequeños en la primera etapa (2.0 mm) y medianos a partir de la 2a. etapa (3.0 mm).

Para los demás materiales el tamaño fue pequeño: caupí cabecita negra y mungo, 2.0 mm de diámetro; maní y crotalaria: 2.5 mm de diámetro.

En cuanto a la forma de los nódulos, todas las variedades evaluadas presentaron nódulos globosos durante todo su ciclo de vida, exceptuando la Crotalaria donde la forma globosa estuvo presente en las etapas de emergencia y vegetativa, pero a medida que el nódulo crecía se encontraron diversas formas en bastón, oval, astragaloide, además del globoso.

### 3.4. Efectividad de las cepas en invernadero

En el Cuadro 5 se presentan los resultados del segundo ensayo. Tanto la soya como el fríjol presentaron nódulos efectivos con su cepa, ratificando la eficiencia de las cepas utilizadas para cada especie. La no nodulación de los tratamientos testigo, confirman la eficiencia de la esterilización del suelo.

### 3.5. Efectividad de cepas en soya

En soya la cepa *Rhizobium japonicum* fue la única que mostró efectividad al producir nodulación de color rosado (Cuadro 6 y 7), sin embargo otras cepas produjeron escasa nodulación pero todos los nódulos de color blanco,

indicando una reacción de no efectividad. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Jordán en 1984, quien señala que la soya, cuya cepa la denomina del género *Bradyrhizobium*, no produce nódulos efectivos con ninguna cepa de otras leguminosas, como lo ocurrido con las cepas de rizobio utilizadas en este estudio.

### 3.6. Efectividad de cepas en fríjol

Aparte de su cepa natural *Rhizobium phaseoli* las cepas de maní, frijolillo, *Desmodium*, *Crotalaria* y Mungo fueron efectivos en fríjol (Cuadros 8 y 9), lo cual indica que puede deberse a cepas promiscuas o que el fríjol por ser de origen americano, el suelo presenta residuos de rizobio que son fácilmente identificados por la planta para producir el mensaje de la nodulación aunque en forma escasa.

## 4. CONCLUSIONES

- 4.1. La soya presentó nódulos efectivos desde los 16 días después de emergencia hasta que el nódulo empezó su degeneramiento (50 DEE).
- 4.2. Los nódulos de fríjol presentaron la vida útil más corta (hasta el día 37 DDE). Al contrario de los otros cultivares, en el fríjol todos los nódulos encontrados desde el inicio del llenado de vainas estaban deterioradas.
- 4.3. El mungo y maní presentaron nódulos rosados a partir de la etapa vegetativa (16 DDE). De aquí en adelante, hasta los 55 DDE hay aporte de nitrógeno por el rizobio, teniendo en cuenta la coloración interna de los nódulos (rosados).
- 4.4. El caupí y la crotalaria presentaron nodulación efectiva desde los primeros 15 días de su ciclo de vida hasta los 55 DDE.
- 4.5. La soya no produjo nódulos efectivos con cepas diferentes a *Rhizobium japonicum*. Las cepas aisladas de maní, frijolillo,

llo, Desmodium, Crotalaria y mungo produjeron nódulos efectivos en el fríjol.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. ALLEN, E. K.; ALLEN, D.N. Biochemical and symbiotic properties of the rhizobia. *Bacteriology*. 14: 273-30. 1950.
2. BELALCAZAR, D.N. 1977. Inoculación con *Rhizobium japonicum* en soya intercalada en caña de azúcar en el Valle del Cauca. Palmira, Universidad Nacional de Colombia, 1977. 116 p
3. BOWEN, C.D. 1959. Field studies on nodulation and growth of *Centrosema pubescens*. *J. Agric. Sci Queensland*, 16:253-265. 1959.
4. CARLSON, J. B. Soybean: Improvement production and uses. *Madison. An. Soc. Agron.* 1987.
5. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Simbiosis leguminosas Rizobio; Manual de métodos de evaluación, selección y manejo. Cali, 1985. 20 p.
6. CORDEIRO, L. Caracterizao de nodulos en leguminosas de Cerrado, Brasil. 1980. 9 p.
7. HALLIDAY, J.; SOMASEGARAN, P. Nodulation, nitrogen Fixation and *Rizobium* strain affinities in the genus *leucaena* In: "Leucaena Research in the Asian-Pacific Region, Singapore, 1982. pp 72-32.
8. JORDAN, D. C. Family III Rhizobiaceae. In: *Bergey's manual of systematics Bacteriology*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1984. Vol. 1. 100 p.
9. LANGE, R. T; PARKER, C. Nodulation pattern on legumes. *Nature* vol 186: 178-179. 1960.
10. SANKPAL A. S.; KONDE, B. K. Nodulation in *Leucaena leucocephala*. *J. Mahavastra Agricultural University. India* 10: 64-65. 1985.
11. VARGAS DE ROZO, E. Aspectos microbiológicos de la fijación simbiótica de nitrógeno por el *Rizobium*. Instituto geográfico Agustín Codazzi, Bogotá 5: 30 p. 1969.