

24. 79

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



INTERACCION DE AZOTOBACTER Y ABONOS
ORGANICOS Y SU EFECTO SOBRE EL DESA-
RROLLO DE PLANTAS SUPERIORES.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

Carmina Catalina Ma. del Carmen Meléndez López



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INTRODUCCION

- 1) DATOS SOBRE DESPERDICIOS SUSCEPTIBLES DE SER EMPLEADOS COMO ABONOS.
- 2) EFECTO DE LA GALLINAZA EN LA FERTILIDAD DEL SUELO.
 - 2.1 DESCRIPCION GENERAL.
 - 2.2 EFECTOS DE LA APLICACION DE GALLINAZA EN LAS PROPIEDADES DE LOS SUELOS.
 - 2.3 LIBERACION NUTRIMENTAL.
- 3) EFECTO A LARGO PLAZO DE LOS ABONOS Y VENTAJAS SOBRE LOS FERTILIZANTES INORGANICOS.
- 4) ESTUDIOS PARTICULARES.
 - 4.1 LA GALLINAZA EN LA PRODUCCION DE LOS CULTIVOS.
- 5) MANIPULACION DEL ESTIERCOL DE POLLO.
 - 5.1 MANEJO DE LA GALLINAZA.
 - 5.2 PREPARACION DEL ESTIERCOL.
 - 5.3 RAZONES PARA SECAR EL ESTIERCOL DE POLLO.
 - 5.4 CONSIDERACIONES SOBRE EL USO DEL ESTIERCOL.
- 6) EFECTO DE AZOTOBACTER EN LA FERTILIDAD DEL SUELO.
 - 6.1 DESCRIPCION GENERAL.
 - 6.2 ESTUDIOS PARTICULARES.
 - 6.3 INTERACCION DE AZOTOBACTER Y OTROS MICROORGANISMOS.
- 7) INTERACCION DE ABONOS ORGANICOS Y AZOTOBACTER.
- 8) CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.
- 9) BIBLIOGRAFIA.

INTRODUCCION

La crisis mundial de energéticos ha tenido una gran repercusión en la producción y precios de fertilizantes minerales ocasionando escasez de estos productos. Esto ha traído como consecuencia los siguientes planteamientos: utilización racional de fertilizantes inorgánicos y la búsqueda de productos que los sustituyan o permitan abatir las necesidades de los mismos.

Entre estos productos se han considerado los subproductos orgánicos como estiércoles, composta de basura, composta de bagazo y cachaza y, aguas negras, algunos de los cuales se han usado en la agricultura desde sus inicios y se conoce el efecto benéfico de los mismos.

Algunos de estos subproductos constituyen serios problemas por la contaminación que ocasionan, por lo que se considera de gran importancia recabar información sobre este tipo de productos, los tratamientos a que son sometidos con fines agrícolas y el efecto que tienen con objeto de dar una mejor y mayor utilización a los mismos y considerar el efecto de estos productos inoculados con microorganismos específicos.

En esta revisión se trata de establecer las posibles interacciones de la gallinaza con Azotobacter y el efecto que tienen sobre diferentes vegetales.

Debido al alto costo de los fertilizantes nitrogenados inorgánicos existe en la actualidad un gran interés por conocer las posibilidades de reemplazar total o parcialmente a los fertilizantes inorgánicos por abonos orgánicos naturales (21). Es importante mencionar que existe una gran cantidad de productos y subproductos orgánicos que a la fecha constituyen un serio problema y los que por tratamientos y distribución adecuados podrían en parte solucionar las necesidades de fertilizantes inorgánicos.

Existe una bibliografía muy extensa referente al efecto de algunos abonos orgánicos, las ventajas que éstos tienen sobre los inorgánicos, así como de los productos y subproductos susceptibles a ser utilizados con fines agrícolas.

1) DATOS SOBRE DESPERDICIOS SUSCEPTIBLES DE SER EMPLEADOS COMO ABONOS.

Los productos de desecho del manejo de animales de diversas especies se han venido utilizando en la agricultura desde hace varias centurias; sin embargo, su aprovechamiento no ha sido racional y en la actualidad comienza a ocasionar serios problemas de contaminación.

La crisis actual por la que atraviesan la mayor parte de los países del mundo en lo concerniente a la producción de alimentos y otros satisfactores, propiciada principalmente por el desmedido aumento demográfico, hace necesario incrementar las áreas de cultivos de riego y de buen temporal así como el desarrollo de programas de planeación agrícola para obtener mayores rendimientos en las cosechas de las tierras cultivadas.

Es necesario recurrir al aprovechamiento de todos los insumos que por el desconocimiento de su valía como fertilizan-

tes orgánicos, han recibido poca atención hasta el presente, como son los estiércoles producidos por las diferentes especies animales, los subproductos industriales de ingenios como el bagazo, la cachaza y la vinaza de industrias del café y de la madera, como el bagazo del café y del serrín.

Lo mismo sucede con grandes cantidades de basura que se recogen de las ciudades y que por falta de un tratamiento adecuado no se aprovechan debidamente.

Martínez (21), refiriéndose al aprovechamiento de la basura, es decir a los desperdicios municipales, su industrialización para la producción de compostas y su utilidad agropecuaria, afirma: se le ha dado poca importancia en los últimos años al aprovechamiento de los diferentes productos que componen la basura y en particular a la composta, que es una mezcla de materias orgánicas de origen vegetal o animal o de ambas, parcialmente desintegradas y que, cuando son sometidas al tratamiento en las plantas beneficiadoras así como al uso posterior en el mejoramiento de las tierras de cultivo, sufren cambios bioquímicos considerables y análogos a los que se producen durante la descomposición del estiércol. De los subproductos mencionados anteriormente, se considera que su aprovechamiento actual es de un 20%, es decir, que considerando un valor total de 3075 millones de pesos, se está dejando de aprovechar en la actualidad, el 80% es decir, 2460 millones de pesos. (T.+).

2) EFECTO DE LA GALLINAZA EN LA FERTILIDAD DEL SUELO.

2.1 DESCRIPCION GENERAL.

De los subproductos de la industria avícola, indiscutiblemente que el principal es el estiércol, su gran valor como fertilizante aún es poco conocido en nuestro país, donde es a--

(T.+). VALOR ANUAL DE LOS SUBPRODUCTOS ORGANICOS POR SU CONTENIDO DE NITROGENO, FOSFORO Y POTASIO Y SU CAPACIDAD DE FERTILIZACION.

Millones de pesos

SUBPRODUCTO	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Total
Estiércoles	1144	821	659	2624
Composta de basura	53	22	10	85
Composta de bagazo y cachaza	154	56	27	237
Aguas negras	66	34	29	129
	1417	933	725	3075

plicado a los cultivos sin haber sido beneficiado. (4)

La cantidad de deyecciones producida por una gallina en postura depende principalmente de su tamaño y consecuentemente de la cantidad de alimentos que consume. En términos generales se estima que una ponedora elimina anualmente y en promedio -- 68 kg de estiércol (68 ton. por 1000 aves).

Las deyecciones o gallinaza son relativamente ricas en nitrógeno y por lo tanto sirven como fertilizante, proporcionan do elementos nutricionales adicionales a las plantas de cultivo (37).

Los análisis de laboratorio indican la riqueza de la gallinaza en macronutrientos (N,P,K,Ca,Mg,S) y micronutrientos- (B,Cu,Fe,Mn,Mo,Zn) (45).

La gallinaza (46) es la forma de estiércol considerada como la más rica en valor nutritivo para las plantas, debido a que el N_2 eliminado no es líquido, sino sólido. Al usarse la gallinaza ha habido respuestas positivas en la producción de los cultivos y en el mejoramiento del suelo.

Worthen (55) ha calculado que del total de los elementos nutritivos contenidos en el estiércol, son tan asimilables como en los abonos químicos, el 60% del N_2 , el 80% de P y el 70% de K.

En el cuadro (1) se observa el contenido de nitrógeno fósforo y potasio; en el cuadro (2) se observa la concentración de Ca,Mg,S y micronutrientos. En ambos casos la concentración de estos elementos en la gallinaza es sumamente variable. También se observa que la concentración nutrimental es mucho mayor en las aves jóvenes que en las adultas. En el cuadro (3) se observan las cantidades de nitrógeno, fósforo y potasio contenidas en una tonelada métrica de gallinaza, reportados por diferentes investigadores.

El uso del estiércol, altamente valuado por su calidad de fertilización, es una práctica tan antigua como la propia agricultura. Los investigadores que han estudiado a la gallina concuerdan al decir que el contenido nutrimental varía considerablemente, influyendo en ello muchos factores: clase del material usado en la vasija, alimentación de las aves y características ambientales del alojamiento. Sin embargo, éste contenido viene dado más bien por el tipo y edad de las aves y del modo de conservación, desecación y almacenamiento (22).

La producción de estiércol está dada o influenciada por diversos factores: el tipo de pollo, edad y raza, la concentración de aves, el valor nutritivo de los alimentos, el tipo y la cantidad de paja de la cama, contenido de humedad en la cama, tipo de suelo, e incluso las condiciones climatológicas durante la acumulación del estiércol (11).

Sólo una porción de cada uno de los elementos nutritivos que se encuentra en los alimentos es digerida por los pollos.

Investigadores de New Jersey descubrieron que una gallina Leghorn blanca de 1.814 kg durante un período de 2 años a partir del inicio de la postura, utilizó sólo 19% de N₂, 12% de P y el 5% de K contenidos en los alimentos. Los investigadores de Pensilvania indicaron que una gallina ponedora digiere aproximadamente, el 54% de la materia seca contenida en los alimentos, arrojando el 46% restante en los excrementos frescos que, sin material de cama son más ricos en sustancias nutritivas para las plantas que los alimentos de los que proceden (45).

Tisdale y Nelson (37) mencionan que los estiércoles están formados por una parte sólida y una líquida en una relación 3:1 encontrándose en la parte sólida alrededor del 50% del nitrógeno, casi todo el ácido fosfórico y cerca del 40% de pota--

SUADRO (1).-

Clase de Aves	Humedad (%)	Nitrógeno (%)	Fósforo (% P ₂ O ₅)	Potasio (% K ₂ O)	Autor
Gallinas	75.0	1.415	1.057	0.467	Beanblossom y col. (<u>11</u>)
Follos asaderos	74.1	2.090	1.287	0.880	
Pavos	74.0	1.426	0.706	0.490	
Aves adultas	25.0	1.30	1.20	1.40	Perkins y col. (<u>45</u>)
Aves jóvenes	25.0	1.70	0.81	1.25	
Gallinas	65.0	1.3	1.0	0.5	González (<u>21</u>)
Pavos	74.0	1.7	0.7	0.5	
	49.37	4.46	4.99	1.56	Lozoya (<u>37</u>)
	31.40	0.60	6.13	2.76	Trejo (<u>55</u>)
	15.8	2.79	2.84	1.84	White y col. (<u>37</u>)
	35.0	1.00	1.3	0.5	Swanbak (<u>37</u>)
	29.5	4.11	3.32	2.61	Hileman (<u>37</u>)
Gallinas		2.27	5.72	0.97	Mestanza (<u>37</u>)
		1.8	1.4	0.76	Yushor y Bear, (<u>37</u>)
		4.0	3.2	1.9	González (<u>21</u>)

Clase de aves	Humedad %	ppm									
		Ca	Mg	S	Na	Mn	Zn	Fe	Cu	Mo	BO
"Broilers"	25.0	1.07	0.37	0.36		272	128	1244	29	12.6	33 ⁺
Gallinas	36.9	3.42	0.52	0.49		333	120	1347	31	13.5	28 ⁺
		3.20	1.05		0.78	333	376	371	35		++
	29.0	1.40	0.31		0.06	175	105	1000	25	2.0	32 ⁺⁺⁺

+ Anónimo (3) Sobre base seca

++ Restanza (39)

+++ Hileman (37)

CUADRO (3).-

Nitrógeno (N)	Fosforo (P ₂ O ₅) Kg	Potasio (K ₂ O)	Autor
16	10	5	Beanblonsson y col. (11)
15.30	5.61	5.79	Tisdale y Nelson (37)
8-9	7-8	4-6	Anónimo (3)
40	25	20	Anónimo (3) ⁺
10	8	4	Mosher (42)

+ Promedio sobre base de la materia seca y suponiendo que no hay pérdidas.

sio. Anderson (2) reporta resultados de análisis similares -- excepto en la gallinaza en donde menciona que la secreción urinaria de las aves es semisólida y la descargan junto con el excremento, por lo que el abono de gallinaza es un producto concentrado. Grandes cantidades de estiércol se producen cada año en la industria avícola. El valor de ese producto derivado para el mejoramiento de los suelos y la producción de cosechas, es bien conocido. Sin embargo, muchos factores que influyen en el empleo del estiércol de pollo en la producción de cosechas no son bien conocidos. Algunos de estos puntos son: 1) producción de estiércol por ave, 2) valor fertilizante del estiércol, 3) efectos del estiércol en la acidez y fertilidad del suelo, 4) efectos residuales.

2.2 EFECTOS DE LA APLICACION DE GALLINAZA EN LAS PROPIEDADES DE LOS SUELOS.

Se ha observado que al hacer aplicaciones de estiércol a razón de 6, 2.5 y 25 toneladas por hectárea aumentan temporalmente los valores de pH del suelo y estos incrementos de pH están relacionados con las cantidades de abono (45).

Algo similar se obtuvo en un trabajo realizado por Metzanza (39) en el que el pH aumentó significativamente con las aplicaciones de gallinaza en todos los casos. El incremento de pH se debe también a que se aplica superfosfato y cal hidratada para evitar el mal olor, para que no se pierda nitrógeno y para combatir algunas enfermedades de las aves, (Salmonella, huevecillos de Ascarides etc.)(22).

Este aumento temporal de pH puede ser consecuencia del amoníaco liberado por la descomposición del estiércol. Cuando la actividad microbiana convierte al amoníaco en nitratos el --

efecto desapareció (37).

2.3 LIBERACION NUTRIMENTAL.

Las investigaciones realizadas con gallinaza han demostrado que su utilización trae como consecuencia efectos benéficos sobre el suelo y el desarrollo de las plantas. Los beneficios no se restringen, como sucede en otros abonos naturales, -- por su contenido N,P,K, y en otros nutrimentos, sino que, se ha observado el efecto que produce es mucho más amplio ya que al aplicarla además de proporcionar estos elementos a la planta; la gallinaza produce una serie de reacciones que ocasionan una fuerte liberación nutrimental de elementos que en ocasiones normales no son aprovechados por la planta (28).

3) EFECTO A LARGO PLAZO DE LOS ABONOS Y VENTAJAS SOBRE LOS FERTILIZANTES INORGANICOS.

Una de las diferencias entre los abonos inorgánicos y orgánicos, es que los primeros son inmediatamente aprovechados y los segundos son de aprovechamiento gradual. Estudiando el -- efecto residual del estiércol avícola (37) se estableció que un tercio del nitrógeno total contenido en la gallinaza es aprovechado en el primer año, otra tercera parte se pierde por volatilización y lixiviación, y el resto es aprovechado por los cultivos durante los 2 ó 3 ciclos posteriores, o sea que tiene un poder residual de 3 a 4 años.

Un reporte (3) menciona que en la primera cosecha -- solamente se aprovecha la mitad de los nutrientes contenidos en la gallinaza aplicados siendo el resto aprovechado en la segunda y tercera cosechas.

En otro estudio (45) realizado por un período de 4 --

años (59-62) para determinar el efecto de la gallinaza reportan los siguientes resultados:

a) El efecto residual de todos los niveles de gallinaza en 1960 (año siguiente a su aplicación) produjo rendimientos altos comparados con el testigo.

b) Los rendimientos producidos por el efecto residual estuvieron directamente relacionados con la cantidad de estiércol aplicada en el año anterior.

c) El efecto residual de 4 toneladas casi desapareció en 1961. Los efectos residuales de otros niveles se mantuvieron pero fueron menores en 1960.

d) En 1962, cuatro años después de la aplicación, no hubo efecto residual significativo.

Y sus conclusiones fueron: más del 75% del incremento total en la producción se obtiene en el año que se aplica la gallinaza.

Thompson (56) encontró que la acción residual de la gallinaza en el cultivo de maíz se mantuvo hasta el cuarto año, el hecho de que este efecto dure es porque las plantas sólo aprovechan una parte de nutrientes en el primer año, y esto lo atribuye al paso del fosfato monocálcico a tricálcico. Debe ser considerado que la otra parte de nutrientes es inmovilizada por los microorganismos del suelo y en etapas posteriores son liberados.

Se establece que (54) una tercera parte del total de N_2 aplicado por medio de la gallinaza es utilizado en el primer año, otra tercera parte se pierde y el resto se puede aprovechar en los 2 ó 3 años siguientes de tal forma que los efectos benéficos de la aplicación dure 3 ó 4 años.

El uso del estiércol latamente valuado por su calidad -

de fertilización, ha determinado que en México se utilicen grandes cantidades de abonos orgánicos, y en especial el de la gallinaza y su consumo ha aumentado considerablemente a causa, sobre todo, de la elevación de los costos de los fertilizantes comerciales y al incremento que en los últimos años se ha experimentado en la población avícola en nuestro país (17).

En un estudio realizado en Chapingo, Méx. (37) con la finalidad de iniciar el estudio de la eficiencia de la gallinaza como una fuente nutrimental para diferentes cultivos, así como comparar su eficiencia en relación a la aplicación aislada de fertilizante mineral, se estableció este experimento en donde se aplicaron los cultivos de: calabacita, zanahoria, lechuga, frijol, haba, papa y cebolla. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: la eficiencia de la gallinaza fué mayor que la del fertilizante mineral en calabacita, zanahoria, frijol y papa, evaluada en función de los incrementos de rendimiento obtenidos. No así para la lechuga y haba donde no se manifestaron efectos sobre rendimiento. Aún en lechuga el fertilizante mineral resultó más eficiente que la gallinaza y en haba la eficiencia fué igual para las 2 clases de abono.

Para la calabacita las aplicaciones de gallinaza aceleraron la generación de los órganos reproductivos. En tanto que en lechuga se observó un atraso en el crecimiento por aplicaciones de éste abono orgánico.

En papa, no obstante obtenerse un incremento en rendimiento mediante la aplicación de gallinaza, ésta afectó la calidad del tubérculo, lo cuál constituye una restricción para su uso en este cultivo.

La aplicación de gallinaza en forma unilateral resultó económica para la calabacita, zanahoria, frijol, no así para el haba, lechuga y papa.

Los resultados obtenidos en cebolla no permitieron hacer una evaluación de las aplicaciones de gallinaza. Estas aplicaciones en los cultivos de calabacita, zanahoria y frijol señalan ser una buena alternativa de fertilización la cual puede sustituir adecuadamente a la fertilización mineral aquí aplicada.

Algunos autores mencionan que en aquellas hortalizas -- que requieren niveles elevados de nitrógeno se benefician con la fertilización a base de abono de aves, recomendada para coles y lechugas aplicaciones de 11 a 16 ton métricas/Ha, no así para el cultivo de tomate, pimiento y calabaza donde recomiendan cantidades moderadas, de 2.5 a 5 ton métricas/Ha; ya que demasiado nitrógeno puede producir un exceso en el desarrollo de los tallos y hojas con poca fructificación. Para el cultivo del melón sandía, pepino y cultivos semejantes la cantidad de gallinaza empleada no debe ser mayor de 2.5 ton métricas/Ha (11).

Además se considera que en las hortalizas las aplicaciones de gallinaza deben hacerse de 2 a 3 meses antes de la siembra.

En Estados Unidos en las ciudades de Blairville, Athens y Tifton se llevaron a cabo pruebas en los campos para evaluar cómo respondían diferentes tipos de cosechas al estiércol de las aves de corral y a los fertilizantes minerales.

En la región de Mountain de Blairville se sembró maíz y se fertilizó con estiércol de gallina y con y sin fertilizantes comerciales.

Los resultados con respecto al control dieron un aumento de aproximadamente 86 hectolitros de maíz por hectárea. El fertilizante comercial no tiene efecto significativo sobre las cosechas, cuando se aplica con 9.88 ton. o más de estiércol. - Las cosechas aumentaron aplicando estiércol.

Un aumento notable en la producción de grano de avena - en Arlington, se obtuvo como consecuencia de la aplicación de - estiércol de pollo a razón de 6, 12.5 y 25 ton por hectárea, en Athens en un terreno sésil arcilloso de baja fertilidad, se agregaron 25 toneladas de gallinasa por hectárea. Esto dió como resultado una mejor cosecha que los otros tratamientos. Todos los tratamientos a base de estiércol produjeron cosechas mayores -- que los tratamientos a base de fertilizantes comerciales.

Lo mismo sucedió en las cosechas de algodón y de forrajes con el tratamiento de estiércol + 112 kg de N_2 49 de P y -- 94 de K para forrajes produjeron aproximadamente la misma cosecha en ambos casos pero el estiércol fué mucho más efectivo para la producción de forrajes durante el resto de la temporada, - en cuanto al algodón con aplicaciones de 6 ton. por hectárea las cosechas fueron duplicadas.

En todos los casos hubo efecto residual ligero debido a que todo el nitrógeno contenido en el estiércol se ocupa de inmediato (45).

Dado el contenido en fósforo relativamente bajo del estiércol, es aconsejable efectuar aplicaciones suplementarias de superfosfato o de fertilizantes que posean un alto contenido de fósforo.

En la mayor parte de los estados de la República Mexicana se carece de información acerca de dosificaciones de estiércol, sólo o combinado con fertilizantes químicos; así como las épocas y los métodos de aplicación, es indispensable el establecimiento de pruebas experimentales para obtener datos que permitan efectuar recomendaciones específicas (21).

4. ESTUDIOS PARTICULARES.

4.1 LA GALLINAZA EN LA PRODUCCION DE LOS CULTIVOS.

Numerosas investigaciones relacionadas con la aplicación conjunta de gallinaza y fertilizantes minerales demuestran con frecuencia que esta práctica puede incrementar los rendimientos en los cultivos (37).

Sin embargo, estas investigaciones se han realizado en México básicamente para el cultivo del maíz, sin considerar otros cultivos que tienen igual o mayor importancia para el agricultor, como las hortalizas, que además de contribuir económicamente al ingreso del agricultor, le proporcionan carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales esenciales.

Perkins(45) y col. reportaron estudios realizados en Georgia con aplicaciones de gallinaza bajo el tratamiento de -- 100-44-84 lb de N,P y K/acre + 5 ton de gallinaza /acre. Los rendimientos obtenidos con el tratamiento más bajo de fertilizante mineral (50-22-42 lb de N,P,y K respectivamente) fueron similares a los obtenidos con gallinaza.

Con el propósito de evaluar el efecto de la gallinaza al combinarla con dosis de fertilizante nitrogenado y fosforilado en maíz de temporal Castro(17), estableció 6 experimentos en la región de Chalco y Amecameca. Las dosis con que se obtuvieron los máximos rendimientos variaron para nitrógeno de 90 a 120 kg/ha para fósforo de 20 a 40 kg/ha y para gallinaza de 4 a 6 ton/ha. Encontró una mayor respuesta a la gallinaza en los suelos de lomeríos, dado que los experimentos fueron establecidos en estas dos condiciones.

Alvarado (1), en el Valle de México estableció una serie de 20 experimentos con maíz. Los rendimientos obtenidos en

6 experimentos muestran que los incrementos de rendimiento lo--
grados con aplicaciones de 10 ton/ha de gallinaza fueron signi--
ficativos no así en los demás, donde no se manifestaron diferen--
cias significativas e inclusive en uno de ellos hubo respuesta--
negativa.

En un estudio realizado sobre interacción gallinaza-N₂
en un cultivo de maíz en Chapingo, Méx. (55) los resultados -
obtenidos fueron los siguientes: el número de plantas estériles
se incrementó al aumentar las dosis de nitrógeno y de gallinaza.
Obviamente esto se reflejó en un abatimiento del rendimiento --
del grano, por lo que las causas de este abatimiento fueron las
dosis crecientes de nitrógeno y de gallinaza, lo cual sucedió -
por lo siguiente: los fertilizantes minerales y la gallinaza su
ministran nutrimentos al suelo, por lo tanto es un hecho que en
suelos con bajo contenido de ellos el cultivo eleve sus rendi--
mientos, puesto que la planta los toma en cantidades adecuadas;
lo contrario ocurre en suelos con alto contenido de nutrimentos
de tal suerte que un abatimiento en el rendimiento sólo puede -
explicarse en función de excesos de algunos nutrimentos y defi--
ciencia de otros, es decir de un desequilibrio nutrimental en -
el suelo.

El cultivo mostró un abundante desarrollo vegetativo co--
lor verde oscuro, susceptibilidad a la sequía y disminución del
rendimiento, síntomas que la literatura reporta como un exceso
de nitrógeno (55).

Si la planta absorbe nitrógeno en exceso, recibe un es--
tímulo de su síntesis proteica y formación de nuevos tejidos,--
empleando la mayor parte de sus carbohidratos en la elaboración
de proteínas y aminoácidos. Ello es la causa por la que los car--
bohidratos de peso molecular elevado que la planta requiere pa--
ra la formación de tejidos de consistencia no son sintetizados

en cantidades suficientes. A consecuencia de ello, los tejidos presentan una coloración verde oscura y una consistencia esponjosa y blanda resultado de la riqueza de la clorofila. Ello eleva el peligro del encamado y reduce la resistencia del vegetal a las inclemencias, (calor, frío, sequía, viento y granizo) y enfermedades foliares (herrumbre o roya y cenicilla), asimismo, se retrasa la madurez y se disminuye con frecuencia la calidad del producto. Algunos autores sostienen que en el maíz - para grano el estímulo que le producen las fuertes aplicaciones de nitrógeno en el crecimiento del vegetal son indeseables y -- que ello retarda la madurez y puede causar una disminución del número de granos(55). Sin embargo, Tisdale y Nelson(55) aseguran que el hecho de que las excesivas aplicaciones de nitrógeno prolonguen el período de crecimiento y retarden la madurez se debe a que no se suministran cantidades adecuadas de otros elementos nutritivos, por lo que el efecto de nitrógeno que retrasa la madurez, no es tan importante como se ha considerado-- a veces.

También existe la evidencia experimental que los excesos de nitrógeno pueden provocar deficiencias de micronutrientes.

En los resultados no hubo interacción gallinaza-nitrógeno para rendimiento de grano, plantas estériles y número de hijos, en cambio si se presentó efecto de interacción positiva-gallinaza- nitrógeno para rendimiento de forraje seco y porcentaje de nitrógeno en el forraje. El rendimiento de forraje seco-- también tendió a disminuir con dosis crecientes de nitrógeno y gallinaza.

El autor concluye que el bajo rendimiento se debió probablemente a un desequilibrio nutricional.

Como el contenido de nitrógeno es mayor al del fósforo en gallinaza, su indicación principal es para aquellos culti--

vos que requieren de altos niveles de nitrógeno, tales como -- maíz, sorgo, zacates y algodón; una aplicación anual de 8 toneladas por ha. es muy recomendable, pudiendo aumentar en este caso hasta 16 toneladas. En los cultivos de hortalizas, que en general también requieren altos niveles de nitrógeno, la gallinaza tiene gran aplicación pudiendo añadirse de 10 a 16 toneladas por hectárea.

En los cultivos de curcuvitáceas como melón, sandía y calabaza, la aplicación no debe pasar de 2 toneladas por hectárea. En los cultivos de papa no es recomendable su uso. En los árboles frutales y arbustos ornamentales, la aplicación se hace generalmente en forma individual en otoño o principios de primavera, debiendo aplicarse 500g por cada árbol de talla media.

Navarro y col. (43) realizaron experimentos con el -- fin de comparar el efecto de la gallinaza con el de los fertilizantes químicos en la producción de maíz; se observó un incremento de 3.75 ton de maíz/ha. cuando se hicieron aplicaciones de -- 20 ton/ha de gallinaza más 200 kg de P_2O_5 /ha.

Efecto de gallinaza en la producción de forrajes, Mckell y col. (38) establecieron una serie de experimentos por por un período de 3 años, teniendo los siguientes resultados:-- los resultados preliminares mostraron que la producción forrajera aumenta con el abonamiento a base de estiércol de aves, obteniéndose un rendimiento casi 4 veces mayor en comparación con las parcelas no abonadas. En el segundo año los rendimientos se incrementaron en 2.5 veces comparada con el testigo. Encontraron que las dosis equivalentes de fertilizante mineral produjeron -- rendimientos aproximadamente iguales a los del abono de aves, -- excepto cuando el contenido de N y P del estiércol de aves se -- encontraba por abajo del valor esperado.

5. MANIPULACION DEL ESTIERCOL DE POLLO

En las granjas y ranchos del país generalmente existe - la costumbre de acumular el estiércol en los terrenos próximos - a los establos o en los lugares aledaños adonde duermen los ani males. El calor del sol, las lluvias y el viento empobrecen este material, perdiéndose gran parte de los elementos nutritivos que contiene. Por acción del lixiviado de la lluvia, el líquido que escurre no solamente contiene las deyecciones líquidas, sino también la parte soluble de las heces y de las camas.

Aún en el caso de estar cubierto, sobre piso de tierra - también se producen pérdidas de la porción líquida por escurrido del montón, filtrándose luego en el suelo sobre el que reposa el estiércol, lo que ocasiona enorme pérdida de nutrientes y -- problemas de contaminación ambiental (21).

Existen diversos métodos de manejo de estiércol. El redileo en fresco, en establo libre, Millar (19) menciona la -- conveniencia de usar pisos de concreto para evitar pérdidas de la fracción líquida del estiércol; Rigau (19) recomienda el es-- tercolero de fosa para las pequeñas explotaciones ganaderas y - el de plataforma para las grandes explotaciones. Todos estos mé todos no la protegen de los elementos climáticos, por lo tanto es necesario usar un mecanismo que conserve las propiedades del estiércol en su proceso de transformación, y permita su utiliza ción integral, esto se puede lograr mediante la construcción de estercoleros.

En México se ha venido utilizando, desde que se tiene - noticia por empresas pecuarias establecidas. Sin embargo, su e- laboración ha sido muy deficiente. Generalmente se amontona en- lugares en los que se pierde el contenido líquido y se propician

condiciones de anaerobiosis que provocan la producción de gas - metano, que favorece la contaminación del medio ambiente con -- los olores y el desarrollo de moscas.

Este producto irregularmente descompuesto se ha venido aplicando en cantidades muy elevadas dando lugar a un desperdicio y a costos antieconómicos.

La aplicación también es técnicamente deficiente en lo que respecta al mal manejo del estiércol en el campo, ya que en muchos casos, no se incorpora al terreno o se incorpora en terrenos secos y no puede ser aprovechado por la planta ya que para que ésto suceda se requiere de la descomposición microbiológica que ocurre dentro de una masa de suelo húmeda y bien aerada, por lo que se considera que se han venido utilizando a un - 25% de eficiencia (21).

5.1 MANEJO DE LA GALLINAZA.

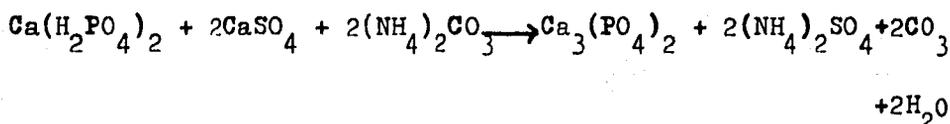
El valor que como fertilizante tiene la gallinaza no se pierde cuando ésta se encuentra mezclada con la cama, todo lo - contrario, los materiales orgánicos empleados para ella, como - son la viruta, paja, olote, cáscara de cacahuete etc. ayudan a la mejor textura de los suelos dándoles una estructura más conveniente para los cultivos agrícolas (4).

La respuesta de los cultivos a la gallinaza está en función directa de su composición química y del manejo.

Desde hace algunos años se han realizado investigaciones para encontrar mecanismos adecuados con la finalidad de disminuir las pérdidas de nitrógeno que contiene la gallinaza por volatilización, antes de ser incorporada al terreno. Mosher(42) menciona que la mejor manera de evitar pérdidas de nutrientes - en el abono de las aves, es llevarlo directamente desde el galli

nero al terreno y enterrarlo de inmediato.

Algunos investigadores (56) recomiendan utilizar ciertos materiales que mediante reacciones impiden las pérdidas de nitrógeno. El material más usado frecuentemente es el superfosfato de calcio que impide que el amonio (NH_4^+) se pierda por volatilización. Esto ocurre debido a que el superfosfato contiene el 50% de su peso en calcio; siendo la reacción la siguiente:



Se observa en la reacción que el carbonato de amonio — inestable que se forma en la orina durante la descomposición, — pasa a una forma más estable que es el sulfato de amonio. Por lo que se refiere a las pérdidas de fósforo y potasio, tenemos que poco fósforo se pierde y el potasio solamente disminuye cuando el estiércol queda expuesto a fuertes lluvias (1).

Otro material que puede ser utilizado es el yeso (CaSO_4) pero su efectividad es limitada por su reducida solubilidad. Otra forma de evitar las pérdidas de nitrógeno es mediante el secado (37) que, además de disminuir las pérdidas considerablemente facilita su uso (56).

El estiércol fresco, aclara el mismo autor, puede dar como resultado el quemado de las plantas. Esta acción puede ser debida a la competencia que se establece con respecto al nitrógeno entre las plantas en desarrollo y la materia orgánica en descomposición. También puede existir esta competencia con respecto al fósforo. La rápida descomposición del estiércol en el suelo da lugar a la inmovilización del fósforo por lo microorga

nismos. En resumen, la gallinaza ya formada, es decir seca (durante el secado se descompone), se le han observado las siguientes transformaciones: una disminución en la materia orgánica y en el nitrógeno pero un aumento del porcentaje de nitrógeno; -- una disminución en la relación carbono-nitrógeno, lo cual supone la inmediata mineralización del nitrógeno al incorporarse el estiércol al suelo; un aumento en el porcentaje de los constituyentes minerales, un incremento en el porcentaje de fósforo inorgánico dentro del porcentaje total del fósforo, un aumento en el porcentaje de lignina y una disminución en el de la celulosa y el de la hemicelulosa. Es decir, comparando un estiércol ya formado (secado) con uno reciente o fresco, el primero tiene una baja actividad microbiana cuando se adiciona al suelo y una mejora en las condiciones mecánicas del estiércol.

La relación media de carbono-nitrógeno en el estiércol es de 22:5:1.

5.2 PREPARACION DEL ESTIERCOL.

Desde el establo, el estiércol pasa por reacciones químicas diversas que son influenciadas por la abundancia de deyecciones, temperatura, cantidad y calidad de los materiales que forman las camas.

En la masa del estiércol ocurre una fermentación aeróbica, generando temperaturas que alcanzan hasta 70°C , de donde resulta la formación de CO_2 y NH_3 , sustancias volátiles.

En las capas inferiores, donde falta oxígeno, se produce una fermentación anaeróbica a la temperatura de 25 a 35°C -- con escasa formación de NH_3 . Esta es la fermentación útil del estiércol porque hay grandes pérdidas de nitrógeno. Dos circunstancias permiten obtener esa condición:

I) Regularizar la fermentación para reducir al mínimo - las pérdidas de nitrógeno gaseoso.

II) Emplear sustancias que absorban ese gas, reteniéndolo en la masa del estiércol.

La compresión de la masa y el riego son los procesos -- utilizados en la obtención de esas condiciones.

Muchos agricultores, a sabiendas de los beneficios que se obtienen con el tratamiento adecuado de los estiércoles, no dedican atención a la construcción de estercoleros, por considerar que las inversiones que van a efectuar son altas y no redituables; sin embargo, la práctica llevada a cabo en la construcción de estercoleros demuestra que la inversión necesaria -- no es alta, y si es redituable, por lo que se justifica plenamente la labor que se haga para utilizar de la mejor manera este -- importante insumo.

5.3 RAZONES PARA SECAR EL ESTIERCOL DE POLLO.

En primer lugar, si se seca el estiércol a una humedad inferior al 30%, se detiene la reproducción de insectos tales como las moscas. El secado del estiércol reduce la producción de gases tóxicos y olores repulsivos. También reduce el peso total del estiércol a la tercera parte de su peso original.

El estiércol de ave seco deja de ser contaminante porque contiene bacterias aeróbicas útiles. El secado convierte -- al estiércol en un fertilizante o suplemento para suelos útil. Se puede diseminar en la tercera parte del tiempo en que se podría manipular el estiércol mojado o líquido.

El estiércol de aves seco mejora la fertilidad del suelo reduce el costo de cultivar granos y heno. Mejora el pastoreo para el ganado vacuno, y el personal de la granja no se resiste a

manipularlo, como podría ocurrir con el estiércol mojado. El estiércol seco es mucho más seguro en la manipulación porque es menos voluminoso y en su estado líquido tiende a ser difícil de arrastrar cuesta arriba en un diseminador, resulta más difícil de contener al descender pendientes, y vuelca más fácilmente al diseminador. Un vuelco de estiércol seco pasa casi desapercibido por los vecinos (5).

De acuerdo a los análisis efectuados a muestras representativas de estiércol en estado fresco y fermentado seco (estudio realizado por Guanos y Fertilizantes de México) (19) se observa que se pierde un 50% del peso inicial del estiércol en fresco durante la fermentación y secado.

Con el fin de evaluar el rescate de nutrientes mayores al procesar el estiércol, se muestreó y se analizó estiércol -- procesado y estiércol al aire libre, comparándose posteriormente los resultados mismos que se muestran en el cuadro (4):

Cuadro (4) % de nutrientes mayores rescatados al procesar el estiércol.

MATERIAL	N	P $\frac{0}{25}$	K $\frac{0}{2}$
Estiércol procesado (15% H ₂ O)	1.95	1.85	5.40
Est. al aire libre (15% H ₂ O)	1.10	1.44	1.46
Nutrientes rescatados	0.85	0.42	3.94

Concluyendo lo antes expuesto podemos decir que el procesamiento del estiércol mediante la construcción de estercoleros permite retener los nutrientes en la masa en un 90% minimizándose las pérdidas. El valor de los nutrientes mayores rescatados es suficiente para pagar los costos, tanto de la construcción de estercoleros como los de operación de los mismos, obteniéndose beneficios económicos a partir del segundo año y socia

les desde que se coloca el estiércol en los estercoleros.

La construcción de estercoleros es factible técnica y económicamente, además de los beneficios sociales que trae como son la prevención de la contaminación, condiciones de vida más higiénicas y prevención de enfermedades.

Asimismo, el procesamiento del estiércol reduce el tiempo de mineralización de los nutrientes y sus pérdidas, de tal manera que el agricultor en una forma sencilla puede transformar el estiércol en un abono de mejor calidad en un tiempo relativamente breve.

El uso racional del estiércol y su procesamiento, puede incrementar las áreas fertilizadas, redundando en un incremento en la producción de cosechas y el mantenimiento de la fertilidad del suelo al efectuar aplicaciones anuales. Adicionando 5 ton/ha anuales, se aportarían al suelo alrededor de 95 kg de nitrógeno (N_2), 90 kg de fósforo (P_2O_5) y 250 kg de potasio (K_2O).

Por otro lado, la construcción de estercoleros permite generar nuevos empleos (19).

5.4 CONSIDERACIONES SOBRE USO DEL ESTIERCOL.

a) Si no se aplica al suelo poco después de ser evacuado, el estiércol debe almacenarse bajo cubierto y darle la debida cocción a fin de evitar la aereación y desecamiento.

b) Cuando el estiércol se aplica al suelo debe incorporarse tan rápidamente como sea posible.

c) Las aplicaciones ligeras dan mayores rendimientos -- por tonelada de estiércol que las intensas.

d) Aunque el estiércol ejerce un efecto residual considerable, el cultivo para el cual se aplica resulta el más beneficiado. En consecuencia en algunas rotaciones son aconsejables

aplicaciones más frecuentes y más ligeras.

e) Virtualmente todos los tipos de suelo de climas húmedos proporcionan mayores cosechas en la mayoría de los cultivos cuando se abonan con estiércol.

f) Dado el contenido relativamente bajo en fósforo del estiércol, es aconsejable efectuar aplicaciones suplementarias de superfosfato o de fertilizantes que posean un alto contenido de fósforo.

6. EFECTO DE AZOTOBACTER EN LA FERTILIDAD DEL SUELO.

6.1 DESCRIPCION GENERAL:

FISIOLOGIA Y ECOLOGIA DE LAS BACTERIAS FIJADORAS DE N_2 LIBRES.

Desde el aislamiento de Clostridium pasteurianum por -- Winogradsky en 1893 y el aislamiento de Azotobacter chroococcum y A. agilis por Beijerinck en 1901 se dió un gran paso en el estudio de las bacterias fijadoras de nitrógeno libres.

La razón de esta interesante evidencia fué la creencia de que estos organismos contribuyen sustancialmente a suministrar el nitrógeno de las plantas superiores.

Como resultado de esta investigación, numerosas bacterias fijadoras de nitrógeno libres fueron aisladas y estudiadas posteriormente. De ellas la más importante y que ha sido estudiada en forma exhaustiva corresponde a Rhizobium spp.: este género de bacterias utiliza el dinitrógeno (nitrógeno gaseoso molecular en el aire) cuando se encuentra en las raíces de leguminosas formando nódulos y la cantidad de N_2 fijado es superior a la que pueden usar las plantas, este exceso de N_2 se difunde en el suelo. Lo que es benéfico para las plantas vecinas y para -- una siembra próxima.

Su uso como inoculante es recomendado ampliamente para siembras de cualquier tipo de legumbres; en la India se tienen reportes en donde el rendimiento de soya puede ser el doble por la inoculación de Rhizobium en campos donde estas siembras no -- son tempranas.

Otro tipo de fertilizante bacteriano corresponde a las FOSFOBACTERIAS: y de ellas Bacillus megaterium variedad fosfatium es de las más estudiadas. El efecto de las fosfobacterias -- es el de secretar sustancias que estimulan el crecimiento de --

Actualmente se ha dividido a los microorganismos fijadores de nitrógeno en :

- | | |
|--------------------------|----------------------------|
| a) Bacterias anaerobias. | |
| I) No simbióticos | b) Bacterias facultativas. |
| o libres: | c) Bacterias aerobias. |

II) Simbióticas facultativas:

Azospirillum

III) Simbióticas obligatorias:

Rhizobium

En la presente revisión nos ocuparemos de Azotobacter que corresponde al grupo libre y aerobio así como la interacción de este microorganismo con la gallinaza.

AZOTOBACTERACEAE.-

Azotobacter representa el grupo principal de las bacterias fijadoras de N_2 libres. La familia incluye diferentes tipos de organismos de los cuáles la habilidad a fijar N_2 es la característica principal que las une. El manual de Bergey's (57) - nos enumera a tres géneros, Azotobacter, Beijerinckia y Derxia, pero un análisis del DNA y los exámenes de hibridación-DNA (51) nos muestran que el género Azotobacter incluye tres grupos genéticamente diferentes (T.1) y por lo tanto debe dividirse en 3 géneros distintos. El nombre genérico de Azotobacter puede ser conservado por los grupos Chroococcum-beijerinckii-vinelandii--paspali en tanto otros autores (51) proponen el nombre genérico de Azotomonas para el grupo insignis-macrocytogenes y Azotococcus para el grupo agilis.

Bacterias de las Azotobacteraceae, con excepción de algunos del género Beijerinckia, son organismos grandes con células de 2-3x 3-6 milimicras. A. macrocytogenes, A. insignis y A. agilis, son células casi cocoides.

T. (1) ALGUNAS CARACTERISTICAS DE LOS AZOTOBACTERACEAE

ESPECIES	%(G+C)	FANGO	HABITAT
<u>Azotobacter chroococcum</u>	64.8-66.0	Moderado	Suelo+filosfera
<u>A. vinelandii</u>	65.8-66.5	Moderado	Suelo+agua
<u>A. beijerinckii</u>	66.2	Moderado	Suelo
<u>A. paspali</u>	63.2-64.6	Moderado	Rizoplano pas- palum spp.
<u>A. macrocytogenes</u>	58.2-58.6	Abundante	Suelo
<u>A. insignis</u>	56.9-57.9	Ausente	Agua
<u>A. agilis</u>	52.5-53.5	Poco	Agua
<u>Beijerinckia indica</u>	54.7	Abundante	Suelo+filosfera
<u>Derxia gummosa</u>	70.4	Abundante	Suelo

Azotomonas; Azotococcus (51)

Algunas especies forman una gran cantidad de líquido -- viscoso con la excepción de las especies acuáticas como A. insig-
nis y A. agilis. A. macrocytogenes forma tetraedros o grandes --
grupos de células, rodeadas por cápsulas de aspecto viscoso.

Azotobacter del tipo chroococcum, vinelandii beijerin--
ckia y paspali pueden formar grandes y numerosos quistes duran-
te la fase temprana estacionaria. La formación de quistes está
estrechamente relacionada con la acumulación que haya dentro --
de las células de una gran cantidad de ácido poli-β-butírico-
(PHB), el cual es parte substancial en la formación de los ---
quistes. Un quiste contiene generalmente en su vida celular, --
una membrana citoplasmática y una pared celular rodeada por una
capa gruesa, la cual protege a la célula particularmente de in-
fluencias físicas tales como la desecación y el calor.

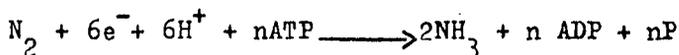
El calcio es requerido para la formación de la capa ---
quística (51) cuando el quiste se encuentra en un lugar favo-
rable para su crecimiento se lleva a cabo la germinación. Cuan-
do el carbono del medio nutricional es asimilado rápidamente el
proceso completo de la germinación toma alrededor de 8 h (36).

Azotobacter utiliza gran cantidad de compuestos de car-
bono para su crecimiento y la fijación de N_2 . Al adicionar di--
versos azúcares, polisacáridos primarios y secundarios y polial-
coholes, ácidos orgánicos y compuestos aromáticos como benzoato,
p-benzoato los cuales funcionan dando origen al carbono y la --
energía (51).

FISIOLOGIA DE LA FIJACION DE N_2 .

Aunque existen grandes diferencias en la morfología y -
fisiología de los diferentes tipos de bacterias fijadoras de N_2
libres, la reacción central según la cual el proceso de la fija-
ción de N_2 y el sistema enzimático (nitrogenasa) responsable de -

la siguiente reacción son similares en todos los tipos de fijadores de N_2 , (1):



Es visto que la fijación de N_2 requiere ATP al adicionar 6 electrones. Generalmente es aceptado que por $2e^-$, se requiere un mínimo de 2 moléculas de ATP, asumiendo que 38 moles de ATP son derivados de la ruptura aeróbica de una mol de glucosa (180g) y más distante que $6e^-$ equivalen a 9 moléculas de ATP, en entonces una mol de glucosa teóricamente permite la fijación de 1.8 moles de N_2 , asumiendo que todo el poder de la reducción y energía sea usado en la reacción de fijación de N_2 .

EFEECTO DE LOS VALORES EXTERNOS EN LA FIJACION DE N_2 .

Al adicionar substratos, la fijación de N_2 por bacterias fijadoras de N_2 son afectadas por diversos factores, incluyendo nutrición mineral, suministro de O_2 y la presencia de nitrógeno combinado, particularmente NH_4^+ .

NUTRICION MINERAL.

De los elementos esenciales, directa o indirectamente involucrado en la fijación de N_2 el molibdeno es el más específico, está contenido en uno de los 2 componentes de la nitroгена. En ausencia de una cantidad adecuada de molibdeno no sucede la fijación de N_2 , esto es verdadero en todos los tipos de bacterias libres fijadoras, así como en sistemas simbióticos.

Por otra parte, el requerimiento de molibdeno en Azotobacter adicionado con NO_3^- es mucho más pequeño que en otros cultivos fijadores de N_2 .

En algunos tipos de bacterias fijadoras de N_2 libres el vanadio puede ser substituído por molibdeno, esto es válido para A. chroococcum y A. vinelandii pero no para A. agilis y beijerinckia spp. (12).

Potasio, calcio y magnesio son elementos esenciales para bacterias fijadoras de N_2 libres. Sometiendo a un cultivo de Azotobacter en un medio con deficiencia de K, se reduce y al último se paraliza el crecimiento de la célula.

La fijación de N_2 sigue esta dirección, aunque es severamente afectado por la deficiencia de potasio en el crecimiento (51). Esto indica que el efecto citado anteriormente en la actividad de la nitrogenasa es indirecta por la acumulación de compuestos solubles nitrogenados parecidos a NH_4^+ o por reducciones difíciles y ATP resultante de la baja de la actividad metabólica.

Se ha observado que A. vinelandii necesita poco calcio cuando, éste es cultivado con N_2 (51). Transfiriendo un cultivo de células de A. chroococcum a un medio de Ca conforme crecen las células la fijación de N_2 cesa.

Aunque el Mg^{++} es requerido para la reacción de fijación de N_2 , este elemento es también implicado como un cofactor en algunas otras reacciones enzimáticas no directas concernientes a la fijación de nitrógeno.

SUMINISTRO DE OXIGENO.

El oxígeno es requerido por aerobias fijadoras de N_2 libres para suministro de energía. Esto no únicamente pertenece a las reacciones generales de crecimiento, sino también a la fijación de N_2 . Esto puede ser fácilmente demostrado por incubación preresultando a Azotobacter con diferentes rangos de aereación y con atmósfera conteniendo 10% de acetileno (51).

A un bajo contenido de P_{O_2} la actividad de la nitrogenasa, es medida por una reducción del acetileno, esto fué prácticamente negligible debido a la carencia de generación de ATP. Incrementando el suministro de oxígeno la actividad de la nitrogenasa prevalece bastante tiempo, pero cuando la presión del O_2

excede cierto valor, la reducción del acetileno baja a un valor el que es apenas superior que el de P_{O_2} . En contraste con la actividad de la nitrogenasa, el rango de la respiración de estos cultivos de AZOTOBACTER obtienen altos valores de P_{O_2} .

El efecto adverso al incremento de la presión de O_2 en la actividad de la nitrogenasa de células de Azotobacter vivas es en parte debido a la oxidación de reductantes requeridos en la fijación de N_2 (reacción 1) y en parte a la sensibilidad de la nitrogenasa (particularmente los componentes fierro-proteína) de una prolongada exposición de las células a un exceso de oxígeno. En semejantes condiciones la nitrogenasa puede ser irreversiblemente inactivada.

Un nuevo mecanismo de fijadores aeróbicos de N_2 del tipo Azotobacter protectores del sistema nitrogenasa, además el exceso de O_2 incrementa fuertemente la utilización de sustrato (reductantes) que quitan el exceso de oxígeno (protección respiratoria). Esto indica un fuerte incremento en el rango de respiración (valor alto de Q_{O_2}) que incrementa el P_{O_2} . Como resultado de este mecanismo de Azotobacter puede consumir grandes cantidades de sustrato no usado directamente, para síntesis de material celular o para la fijación de N_2 . De esto resulta un decremento fuerte en los valores efectivos de la fijación de N_2 .

La formación de cantidades excesivas de sustancia viscosa extracelular que favorece a la formación de grupos, y presumiblemente también el gran tamaño de las células de algunos Azotobacter.

EFEECTO DE NITROGENO COMBINADO, PARTICULARMENTE NH_4^+ .

Cuando las bacterias fijadoras de N_2 libres provistas con NH_4^+ hay un rápido elevamiento y asimilación de este compuesto.

Bacterias aeróbicas del tipo Azotobacter responden en diferentes formas al adicionarles NH_4 . Inmediatamente después -

de adicionar pequeñas cantidades de una sal de amoniaco a un cultivo fijador de N_2 , la actividad de la nitrogenasa baja y después de 1 a 2 horas se inhibe totalmente.

Reacción 1 :



Los resultados obtenidos (**F.1**) demuestran que el descenso de la actividad de la nitrogenasa en Azotobacter vivos alimentados con NH_4^+ no es debido a : a) represión de la síntesis de nitrogenasa o b) inhibición competitiva, sino a la competencia de reductantes y/o ATP entre actividad de la nitrogenasa y asimilación de amoniaco.

El deterioro de la nitrogenasa en células vivas por NH_4^+ explica por qué los Azotobacter no crecidos o desarrollados son incapaces de fijar N_2 . El NH_4^+ derivado de la fijación de N_2 , -- que en células adultas es rápidamente asimilable, y que en células no adultas es acumulado, lo que consecuentemente inactiva el sistema nitrogenasa. Cuando los Azotobacter son expuestos a una atmósfera consistente de aire con un 10% de C_2H_2 no hay fijación de N_2 así, de este modo la acumulación de NH_4^+ , no ocurre. En tales condiciones, el sistema nitrogenasa puede ser bloqueado por períodos prolongados ocasionando que los organismos no crezcan (51). (Figs. 2 y 3).

COMPARACION DE LA FIJACION DE N_2 EN FIJADORES LIBRES Y SISTEMAS SIMBIOTICOS.

No obstante que las nitrogenasas de ambos sistemas son similares funcionalmente, son observadas marcadas diferencias -- que a continuación se señalan por su importancia:

- a) La fase de crecimiento de los fijadores de nitrógeno durante la que se lleva a cabo el proceso de la fijación de N_2 .
- b) El tiempo de vida de los organismos en el que se lle

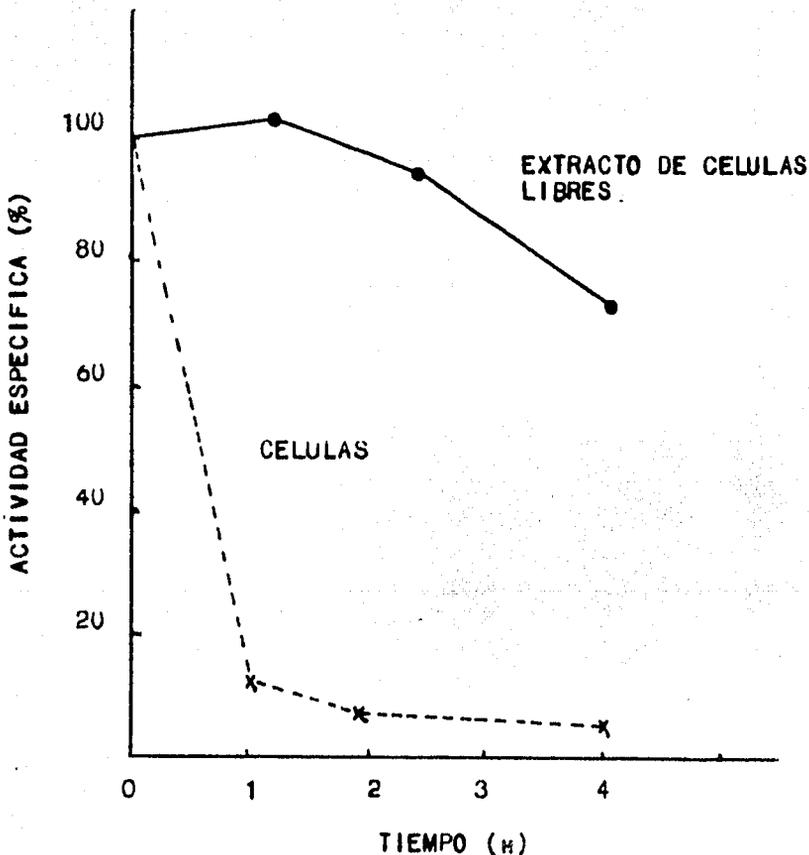


Fig. (1).- Actividad de la nitrogenasa de células vivas de A. chroococcum, mezcladas a diferentes intervalos después de la adición de acetato de amonio (concentración final de 5mM) al cultivo, comparado con la actividad de extractos de células libres preparadas para el mismo cultivo en el mismo tiempo. (Brotonegoro, 51).

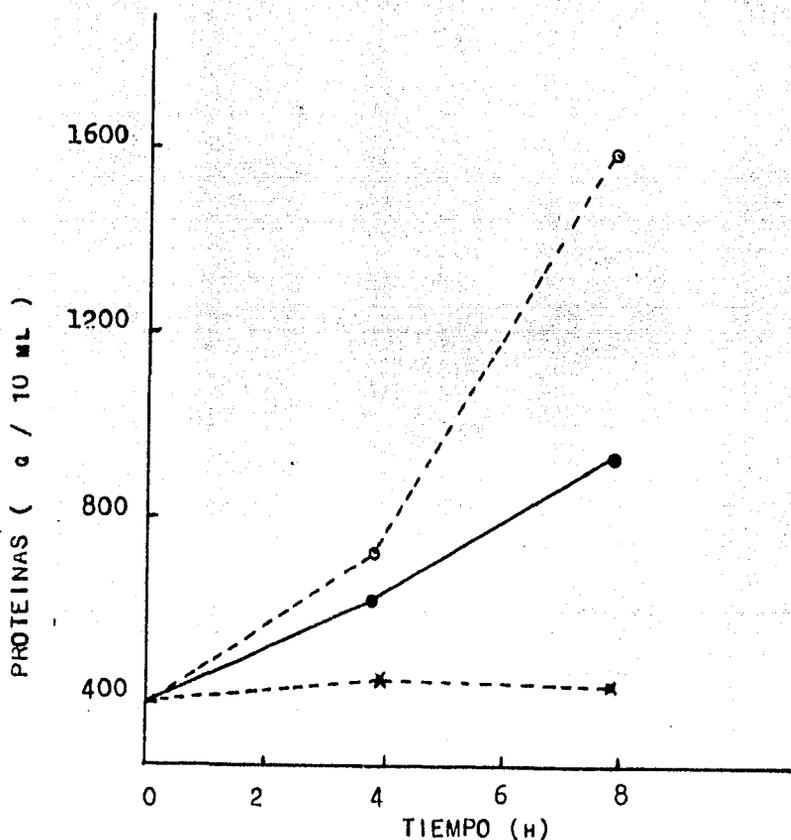


Fig. (2).- Crecimiento de *A. chroococcum* (expresado - en producción de proteína) incubado en acetileno, en -- frascos cerrados con sellos de goma (x); con aire y con sellos de goma (•); y con hisópos de algodón en aire - (o) (Brotonegora). (51)

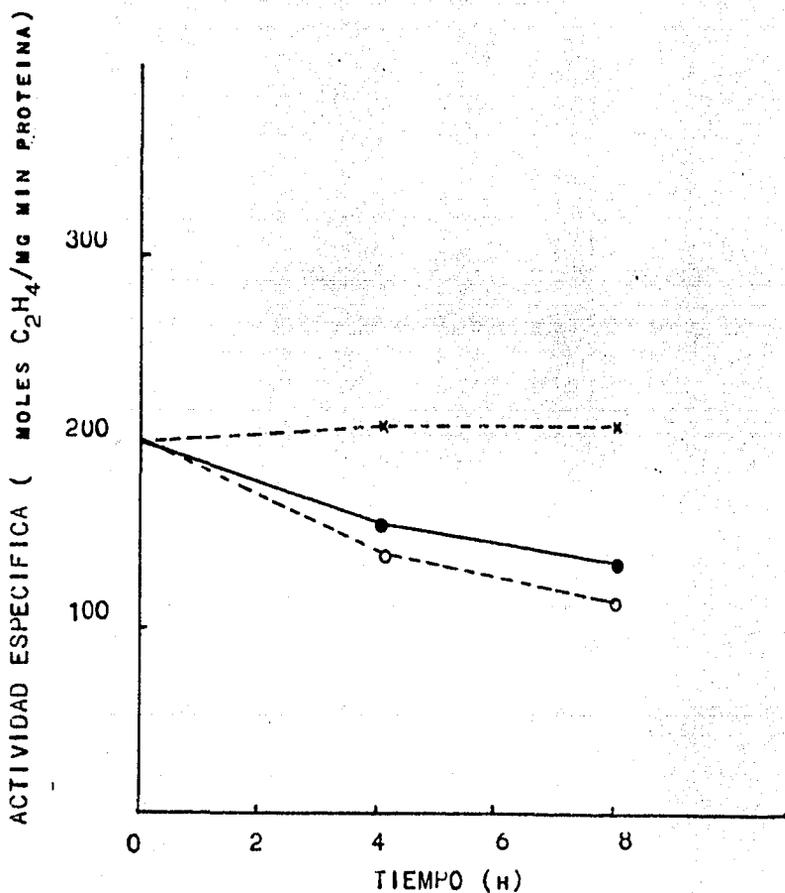


Fig. (3).- Actividad específica de la nitrogenasa en células vivas, no-desarrolladas de A. chroococcum incubadas únicamente en acetileno (●) y de células desarrolladas en aire (x y o como en fig. 1.5). Para las condiciones de crecimiento de éstas células ver fig. 1.5 - (51).

va a cabo el proceso de la fijación de N_2 .

c) La cantidad de nitrógeno fijado por gramo de peso de material celular.

d) La eficiencia de la fijación de N_2 , calculada como - mg de N_2 fijado por gramo de glucosa consumida.

e) La actividad específica de la fijación de N_2 calculada como mg de N_2 fijados por g de proteína por h. (T.2).

FASE DE CRECIMIENTO.

En bacterias libres fijadoras de nitrógeno del género - Azotobacter y presumiblemente también en otros géneros, la fijación de N_2 ocurre únicamente en células adultas en las cuáles - el N_2 fijado es fácilmente convertido dentro de la célula en -- proteína. En células jóvenes, la acumulación de compuestos nitrógenados solubles, incluyendo NH_4^+ en el cual ocurre supresión de la fijación de N_2 (visto anteriormente).

En contraste con las bacterias libres, la fijación de N_2 de Rhizobium-leguminosa toma lugar importante en bacteroides no adultos. Esto fué demostrado en nódulos de soya (51) aunque - la fijación de N_2 de los nódulos (medida por reducción de acetileno) comenzó cuando el número de bacteroides fue incrementando este tipo de crecimiento (una o dos multiplicaciones en una semana) esto no es comparable al crecimiento exponencial de las - células o bacterias fijadoras de N_2 libres.

La máxima actividad de la reducción del acetileno de -- los nódulos de soya fué mantenida desde el decimotercer hasta - el día 30 (alrededor de 4 semanas), donde ya no ocurrió el cre- cimiento de nódulos.

T(2) COMPARACION DE SISTEMAS LIBRES Y SIMBIOTICOS FIJADORES DE NITROGENO.

	AZOTO BACTER	SISTEMA RHIZOBIUM- LEGUMBRE
Fase del crecimiento de bacterias durante el cual el N_2 es fijado.	Exponencial	Estacionario
Tiempo de vida de los organismos - fijadores de N_2 (h).	2-4	cerca de 1 mes
g de N_2 fijado/g material celular (tiempo de vida completo)	0.1	1.0-2.5
Eficiencia (mg N_2 fijado/g compuestos de carbón consumidos)	10-20	250-300
Actividad específica (mg N_2 fijado/g proteína bacterial/h)	25-50	2-5(guisante) 3 (soya)
Destino del N_2 fijado (inmovilizado en bacterias o bacteroides %)	90-95	5-10

TIEMPO DE VIDA DE LOS ORGANISMOS DURANTE EL CUAL
EL PROCESO DE FIJACION DE N_2 SE LLEVA A CABO.

Se ha observado que la fijación de N_2 por bacterias libres fijadoras ocurre unicamente cuando las células están en la fase de crecimiento exponencial, entonces el tiempo de vida de la célula fijando N_2 es de pocas horas. En cambio un bacteroide puede tener capacidad para retener N_2 fijado por más de 4 semanas.

EFICIENCIA DE LA FIJACION DE N_2 .

Las bacterias libres fijadoras de N_2 fijan relativamente pequeñas cantidades de N_2 , Azotobacter 10-20; Klebsiella aproximadamente 5 y Clostridia 5-10 mg de N_2 por gramo de compuesto de carbono consumido. Estos valores son mucho más bajos que los obtenidos con los sistemas simbióticos.

Para Rhizobium -guisante, los nódulos dan un valor de - 270 mg de N_2 fijado por g de carbono consumido (40).

Las grandes diferencias en valores eficaces entre ambos tipos de fijadores de N_2 son principalmente divididos en 2 tipos de fenómenos. (1) Fijadores de N_2 , bacterias vivas libres - son organismos grandes. Esto baja en un gran porcentaje el carbono y compuestos energéticos que son utilizados para la síntesis de material celular. Esto es en contraste a las bacterias o bacteroides de las plantas leguminosas las cuales fijan N_2 en la fase estacionaria (visto anteriormente). (2) Fijadores aerobios del tipo Azotobacter los cuales requieren una gran proporción de compuestos de carbono a pesar de estar excluyendo el oxígeno del sistema nitrogenasa de la célula (protección respiratoria).

ACTIVIDAD ESPECIFICA DE LA FIJACION DE N_2 .

La actividad específica es mayor para Azotobacter que -

para los bacteroides. Las células de Azotobacter en la fase exponencial del desarrollo tienen un tiempo de generación de 2-4 h, durante este período 1 gramo de proteína bacterial tiene un aumento con la misma cantidad de proteína conteniendo 160 mg - de nitrógeno. Para la fijación de esta cantidad de nitrógeno un promedio de 1.5 g de proteína bacterial fué útil (1 g al comienzo y 2 g al terminar el tiempo de generación). Así de este modo se calcula la actividad específica igual a 25-50 mg de N_2 /g proteína/h el cual es un valor aproximado a la cantidad que dió experimentalmente, pero usando el ensayo de la reducción-acetileno (51).

DESTINO DEL N_2 FIJADO.

Azotobacter y, probablemente todas las bacterias fijadoras de N_2 usan la mayor parte de él para la síntesis celular. En un experimento con 5 diferentes macerados de Azotobacter del 7-13% de la cantidad total de N_2 fijado fué excretada por las células (51).

Pate (51) observó que durante el período del inicio de la nodulación, más del 90% del N_2 fijado es transportado a los brotes o vástagos.

ECOLOGIA.

La incidencia y el funcionamiento de las bacterias libres fijadoras de N_2 en su medio ambiente natural (suelo, agua) demanda el cumplimiento de un número de requerimientos para su crecimiento. Estos requerimientos incluyen: a) la presencia de compuestos de carbono disponibles; b) la presencia de cantidades adecuadas de nutrientes inorgánicos como Ca, Mg, Mo, Fe, PO_4 , etc. - c) un pH óptimo para el crecimiento de estos microorganismos; - d) una concentración baja en el suministro de oxígeno.

PRESENCIA DE COMPUESTOS DE CARBONO DISPONIBLES.

El desarrollo de bacterias libres fijadoras de N_2 en el suelo es favorecida por la presencia de cantidades considerables de compuestos de carbono y una cantidad baja de nitrógeno combinado. En un medio ambiente que está bien suministrado con nitrógeno combinado desarrollan fácilmente microorganismos no fijadores de N_2 los cuales compiten con los fijadores de N_2 por los compuestos de carbono (51).

Normalmente un bajo número de *Azotobacter* son contados (10^3 - 10^4 por g de suelo cuando el pH es de 7 o más alto) y entonces la contribución de estos organismos a la fertilidad del suelo es insignificante (51).

PRESENCIA DE NUTRIENTES INORGANICOS.

Aunque diversos suelos son pobres en Ca, Mg, Mo, y algunos otros elementos inorgánicos, es poco conocido el efecto de adicionar estos nutrientes en la fijación de N_2 y el crecimiento de bacterias libres en tales suelos. El efecto adverso de un pH bajo en el suelo con *Azotobacter* puede ser debido a una diferencia de Ca, los suelos ácidos contienen poco Ca^{2+} útil.

EFEECTO DEL pH.

La mayor parte de los *Azotobacter* requieren una reacción neutral o alcalina para su crecimiento.

En un estudio de 264 suelos de Danish de diferente pH revelaron que prácticamente el 100% de los suelos con un pH arriba de 7.5 contienen *Azotobacter* en números que variaron entre 10^2 y 10^4 ppr g, con un pH abajo de 6.5 unicamente en pequeñas fracciones de los suelos examinados se detectaron pocas células de *Azotobacter*(51).

SUMINISTRO DE OXIGENO.

El oxígeno no únicamente afecta a los fijadores de nitrógeno anaeróbicos y anaeróbios facultativos sino también algunas veces interfiere en la fijación de N_2 de las bacterias aeróbicas. Esto indica que los Azotobacter prefieren estar en capas terrestres profundas y en un medio ambiente acuático donde el suministro de oxígeno se espera que sea bajo. Algunos autores (51) dicen que en un medio líquido con nitrógeno libre, A. chroococcum contenido en tubos, tuvo una zona de crecimiento a cierta distancia de la superficie donde el PO_2 aparentemente -- era óptimo.

Cuando los compuestos de carbono contenidos en la solución nutriente se va hacia arriba, la zona de desarrollo también debido al incremento en la demanda de oxígeno. Reduciendo el suministro de oxígeno, puede afectar favorablemente a la fijación de N_2 por organismos de la rizosfera lo cual fué demostrado en experimentos con caña la cual contenía Beijerinckia, y fijadores libres de nitrógeno en la rizosfera.

Mucho del interés en las bacterias simbióticas fijadoras de N_2 del género Azotobacter es debido a la posibilidad de introducirlo en el suelo y la rizosfera inoculándolo para incrementar la producción de plantas. Diversos investigadores reportan (8) que Azotobacter estimula en razón a semillas en germinación, crecimiento de raíces y desarrollo de las plantas, se ha observado significativa respuesta en la producción de cereales cuando hay inoculación con Azotobacter. (33)

Azotobacter se encuentra extensamente distribuido en -- suelos neutros pero su número es reducido, comparándolo con el de otros muchos microorganismos del suelo; esto podría ser un poco irreal debido a que los métodos corrientes no son muy -- efectivos y faltan de mostrar un gran número de células, por una u otra causa las técnicas de preparación de suspensiones de suelo son inadecuadas al igual que los medios selectivos (13).

En otro estudio (14) se hicieron los experimentos en invernadero y concluyen que Azotobacter es más abundante en la rizosfera que en el suelo, la rizosfera no es habitat favorable en condiciones de campo. De cualquier forma, inoculándose las -- semillas con Azotobacter se incrementa el número en la rizosfera.

La inoculación del suelo parece ser menos efectiva; se encontró (14) que aunque Azotobacter desarrolló abundante al final de la raíz de diferentes plantas, el número disminuye con el tiempo; el número inicial de Azotobacter requerido que asegure la supervivencia de las semillas o plantas de semilla es incierto.

Algunos reportes sugieren que la inoculación de semilla o suelo incrementan la producción de cereales, tabaco, tomate, algodón y remolacha hasta en un 20%.

Azotobacter se distribuye en cuanto la población es---

afectada por la inoculación.

Se tiene que hacer un exámen de la frecuencia de Azotobacter en la rizosfera y compararlos con los números establecidos en su inoculación. Los efectos de edad y tamaño del inóculo la humedad del suelo y el pH pueden afectar a la población de Azotobacter (14).

En un estudio realizado en Líbano (10) reportan, que primeramente determinaron la cantidad de Azotobacter por el mayor número probable de técnicas, en las cuales variaron de pocas células (menos de 10) 30,000/g de suelo y vieron que la abundancia fué afectada favorablemente por el cultivo y la materia orgánica y afectada adversamente por la alta concentración de sales.

Estudios en los cultivos morfológicos y características nutricionales de 12 cultivos aislados, revelaron que uno de los aislados parece ser A. vinelandii (Lipman) y el resto de los aislados es A. chroococcum (Beijerinck).

Xilosa, arabinosa y ribosa los utilizó A. vinelandii y no A. chroococcum esto fué usado como un criterio para la diferenciación de las dos especies.

En la estación experimental de Rothamsted (26) se hizo un estudio en plantas de tomate inoculadas con Azotobacter y aplicando giberelina, el resultado de esto fué la proposición de 3 mecanismos para explicar el efecto de Azotobacter en el crecimiento vegetal: 1) fijación de N_2 ; 2) antagonismo hacia toxinas producidas por microorganismos patógenos del suelo; 3) producción de reguladores del crecimiento en la rizosfera.

Viéndose el resultado orientado unicamente hacia el tercer punto antes mencionado, aunque sin embargo, no está determinado si los efectos descritos son causados por la gibereli

na al tomar sustancias formadas por Azotobacter en el cultivo o en la rizosfera, o por otros microorganismos que favorecen el crecimiento. No hay evidencia de que el ácido 3 indol acético - cause los efectos del crecimiento antes descritos.

Algunos cultivos de A. vinelandii y A. beijerinckia -- contienen auxinas y giberelinas (por lo menos 3 tipos) y 3 tipos de sustancias llamadas citokininas. Tratando las raíces de las plantas de semilla de tomate con estos cultivos se acelera el crecimiento de la planta y se incrementa la producción del -- fruto, es decir, aumenta el rendimiento; esto es probablemente -- causado por la actividad de las hormonas de la planta; es decir que estas sustancias actúan de cierta forma en las hormonas para que se produzca un mejor rendimiento.

En España (área subtropical) (7) se utilizaron culti-- vos de A. vinelandii y A. beijerinckia para verificar la presen-- cia y actividad de estas sustancias reguladoras del crecimen-- to.

EFFECTOS DE AZOTOBACTER EN EL CRECIMIENTO DE TOMATE.

La raíz de las plantas (cultivar Marglobe) fueron su-- mergidas en cultivos de Azotobacter A_4 y A_5 después trasplanta-- das a botes con una mezcla de arena, turba, estiércol de pollo (gallinaza) (1:1:1: v/v). Las plantas de semilla que sirvieron de blanco fueron bañadas en medios de cultivos diluidos.

ESTABLECIMIENTO DE AZOTOBACTER EN LA RIZOSFERA DEL TOMATE.

Se toma una muestra de la rizosfera del suelo a inter-- valos de 14 días y se cuenta la diferencia de nitrógeno del me-- dio de A. vinelandii y A. beijerinckia.

EXTRACCION DE REGULADORES DE CRECIMIENTO DE PLANTAS.

Cultivos de A. vinelandii y A. beijerinckia son centri

fugados a 2000rpm por 40 min (diagrama 1):

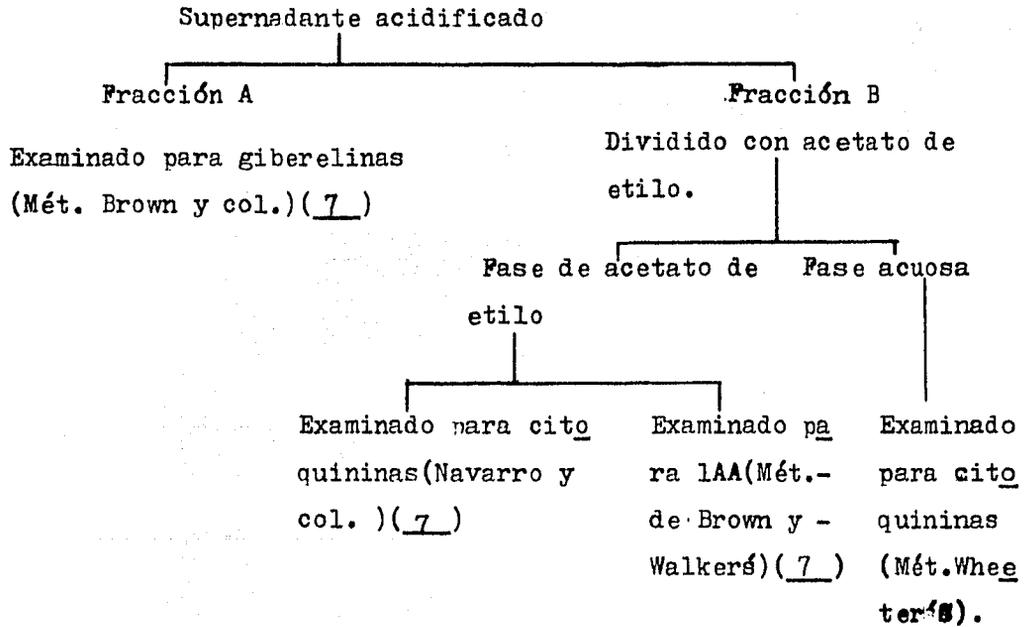


DIAGRAMA QUE MUESTRA LOS METODOS USADOS PARA LA EXTRACCION DE SUSTANCIAS REGULADORAS DEL CRECIMIENTO DE CULTIVOS BACTERIANOS.

Los resultados obtenidos en el efecto del desarrollo de tomate tratándolo con A. vinelandii y A. beijerinckia son los siguientes: tratando las raíces de las plantas de semilla de tomate con cultivos de Azotobacter A_4 y A_5 se mejoró significativamente el crecimiento de las plantas y frutos formados 2 semanas más temprano que las plantas que sirvieron de blanco. La tabla (3) nos muestra la carga estéril seca, el crecimiento 60 días después incrementado significativamente por la inoculación y estas plantas tuvieron flores y frutos más grandes.

ESTABLECIMIENTO DE A. VINELANDII Y A. BEIJERINCKIA EN LA RIZOSFERA DE TOMATE.

La tabla (4) nos muestra el número de A. vinelandii y A. beijerinckia recuperado de la rizosfera de tomate. El número baja en número rápidamente pero algunas células persisten después de 14 semanas.

En un estudio realizado en el Departamento de Microbiología de suelo en la Estación Experimental de Rothamsted (16) cultivaron células de A. chroococcum que, después de 14 días de desarrollo en un medio deficiente de N_2 fueron estudiadas. Se valoró el líquido sobrenadante y las bacterias extraídas fueron examinadas por cromatografía.

Ciertos resultados se evaluaron en las raíces de jitomate, habiéndose alterado también la porción terminal del tronco, las flores y las hojas. Se encontró que los cultivos de Azotobacter contienen 3 tipos de giberelinas que, probablemente, causen los efectos reportados en el desarrollo de las plantas y se producen cuando las semillas o raíces son inoculadas con Azotobacter. El crecimiento de las plantas puede también ser afectado por síntesis de algunas giberelinas en la zona de la raíz cuando el Azotobacter inoculado coloniza las raíces en desarrollo.

TABLA (3).- Efecto de la inoculación de *Azotobacter* en el crecimiento de plantas de tomate.

Materia	Botes inoculados con		C ⁺
	<i>A. vinelandii</i>	<i>A. beijerinckia</i>	
Largo del vástago			
después de 15 días	22	24	19
después de 30 días	107	109 ⁼	97
Peso seco del vástago (g)			
después de 60 días	2.53 ⁼	2.46 ⁼	1.60
Núm. de flores/bote	31 ⁼	32 ⁼	25
Núm. de frutos/bote	8 ⁼⁼	8 ⁼⁼	5
Peso del fruto (g/bote)	39.40 ⁼⁼⁼	37.10 ⁼⁼⁼	27.37

C⁺ = Control

= : Significancia al 5%; ==: al 2%; ===: al 1%.

TABLA(4).- Número de *A. vinelandii* y *A. beijerinckia* en la rizosfera del tomate (núm. s/g de rizosfera seca).

Azotobacter spp.	Semanas						
	2	4	6	8	10	12	14
<i>A. vinelandii</i>	3700	2300	1200	1600	950	400	80
<i>A. beijerinckia</i>	1400	7500	1500	2300	1050	500	80

PREPARACION DE SUSPENSIONES DE SUELO Y MEDIOS SELECTIVOS.

Se han realizado pruebas de varias técnicas de preparación de suspensiones de suelo y medios selectivos (13), se observó la prueba de Collin's la cual sacudiendo el suelo suspendido con cuentas de vidrio se incrementa el número de colonias producidas. Una agitación prolongada suave dada al tratamiento de la suspensión del suelo en un macerador no es efectivo. Usando el método de "Resbalón por contacto de Cholodny's" (13) que identifica a células de Azotobacter, aparentemente en pequeños agregados del suelo. La acción de un golpeteo vigoroso de las cuentas de vidrio, probablemente rompa a los agregados y se separan, entonces se les agrega tween 80 para ayudar a su dispersión.

Esto sugiere que las células del mosto están firmemente ligadas entre sí, posiblemente por sus paredes celulares mucilaginosas y el problema de separarlas es puramente mecánico.

La cuenta de Azotobacter depende grandemente de la cantidad de carbono, las colonias son más pequeñas en gelosa con manitol que el gelosa con glucosa o sacarosa.

Las láminas secas antes de la inoculación disminuyen el número de colonias en manitol más que cuando están secas después, pero esto no puede ser la causa única de un crecimiento pobre.

La sequedad es una parte esencial del método de las platinas, la cual bajo el manitol no debería ser usada. El fracaso de algunos Azotobacter a desarrollar en manitol es de que son 2 distintas poblaciones en el suelo; esto no es una respuesta muy concluyente por los experimentos reportados pero tal es una posibilidad que es investigada.

Azotobacter es influenciado por la concentración de fosfatos en el medio, concentraciones arriba de 2 g por l bajan la cuenta de colonias y precipitan a los fosfatos que pueden ser --

suprimidos.

Comparando los métodos de platina-gelosa y la dilución en tubo, nos muestra dificultades prácticas en botes, pero la forma ción es más exacta.

La glucosa es un sustrato apropiado para uno u otro método, Clostridia no interviene en la provisión de CaCO_3 el cual es adicionado a los tubos de dilución como un amortiguador, pero ellos producen ácido butírico el cual inhibe a Azotobacter.

La similitud entre los métodos de platina y dilución,-- donde las condiciones de interacción microbiana difieren grande mente, sugiere que el antagonismo no es importante. Resumiendo -- lo anterior, en donde se obtuvo un alto contenido de suspensio-- nes del suelo moviéndolo en agua destilada conteniendo 10 g de -- cuentas de vidrio y platinas en gelosa-glucosa.

El manitol es rechazado como un sustrato apropiado en -- medio de gelosa porque baja el desarrollo de las colonias de Azo tobacter que al usar glucosa. Los métodos de gelosa-platina y la dilución en tubo fueron comparados. El último es el menos exacto pero más conveniente cuando muchas muestras de suelo tienen que ser examinadas.

6.2 ESTUDIOS PARTICULARES.

Estudios realizados en la Estación Experimental de Rothamsted, (15) demuestran que plantas inoculadas con cultivos tratados, nos muestran una respuesta significativa en el crecimiento. En experimentos hechos en botes, las cosechas producidas nos muestran un incremento promedio en peso del 11%, peso de la hoja con un incremento de un 8% y las raíces con uno de 0.5%. Estos resultados se asemejan a unos experimentos realizados en la URSS y el este Europeo, pero donde no tuvieron un 10% de vida en promedio. Esto se debió probablemente, a la salud de las plantas. - Al inocular a Azotobacter en plantas enfermizas no hay producción.

Algunos autores dividen las diferentes cosechas en grupos de acuerdo a su efecto sobre Azotobacter. Las plantas leguminosas aumentan la producción de Azotobacter; trigo, maíz linaza y algodón tienen un efecto inhibitorio; avena, cebada papas y girasol no tienen influencia en él. Pero otro reporte nos dice (31), que avena, cebada, pasto, sudán girasol y soya, estimulan el desarrollo de Azotobacter inoculándolo en las semillas; en trigo, - decrece, en maíz, soya y alfalfa causa fluctuaciones de acuerdo al estado de crecimiento de la planta. Katznelson y col. (32) no demostraron un efecto de rizosfera de este organismo en trigo y cebada, y soya. En un estudio realizado en Polonia (31), notaron un "efecto de rizosfera" de ciertas cosechas sobre Azotobacter. Este efecto difiere según la zona y la edad de la planta. -- En este mismo trabajo se estudiaron un poco a otros microorganismos fijadores de nitrógeno de la rizosfera, de estos los tipos anaeróbicos semejantes a Clostridia pueden ser muy importantes - por el hecho de que son más abundantes en el suelo y son menos sensitivos a una gran variedad de factores del medio ambiente --

que Azotobacter. Fué considerado importante, por lo tanto, iniciar una investigación en el número y tipo de estos microorganismos, en la rizosfera de diversas cosechas, sembradas en el campo y determinar su influencia en el crecimiento de plantas, tanto en condiciones naturales inferiores como en invernadero, afectadas también por el suelo y la inoculación de semillas.

Los resultados obtenidos se reportan en las siguientes tablas (5 y 6).

Por otra parte Azotobacter se encontró en todos los suelos estudiados, excepto en arcilla Rideau y arena Upland, variando en número con el tipo de suelo, de 2 a 140 x g de suelo, no se encontró en la rizosfera de amapola, mostaza, lino y trigo sarraceno sembrados en arcilla. Los resultados obtenidos en el invernadero son presentados en la tabla (7). Otra vez puede ser notada que la incidencia de Azotobacter en la rizosfera es afectada por el tipo de plantas usadas y por su edad; la cebolla ejerce un nequeño efecto, el rábano fué inefectivo cuando creció en suelo fértil (suelo arenoso Granby) pero Azotobacter lo estimuló en un suelo pobre (arena Upland). Este efecto favorable incrementa con el tiempo, hasta los 100 días, en rizosfera. Las raíces de trigo en ambos suelos parecen ser las más favorecidas por este microorganismo que cualquiera que las otras 2 cosechas. La cuenta de Azotobacter fué mucho más baja que muchas otras bacterias que normalmente se encuentran en ambos, suelo y rizosfera (31).

En la universidad de Tripoli (8), observaron el efecto de inoculación de Azotobacter en el crecimiento de plantas de trigo y tomate. Se utilizaron 4 clases de Azotobacter chroococcum y beijerinckia, aislados para preparar el inóculo, mezclándolas entre sí para preparar el inóculo usado. El experimento se conduce bajo condiciones de invernadero. El suelo arenoso usado tenía un pH de 8.1 y 24.8 % de CaCO_3 y 0.5 % de materia orgánica, antes

TABLA(5) Descripción de suelos.

Tipo de suelo	Contenido de materia orgánica (%)	P soluble y K reemplazable (kg/ha)	Fertilizantes usados (kg/ha)	pH
Suelo franco arenoso Allandale	—	—	Superfosfato 9 - 69	7.0
Suelo franco arenoso Grenville	6.6	P,33 K,80	Nitrato de Na(46) Superfosfato(138) Muriato de K(35)	7.2 7.2
Suelo franco arenoso Manotick	4.1	P,33 K,57	Superfosfato9-69	
Suelo franco arenoso Granby	3.8	P,60 K,28	N-P-K-(2-11-6) 138	7.0
Suelo franco Matilda	—	—	Superfosfato,9-69	7.0
Arcilloso Norte Gower	7.1	P,172 K,124	Superfosfato,9-69	7.1
Arcilloso Rideau	5.7	P,106 K,146	N-P-K-(2-71-6),83	6.0
Suelo franco arenoso Kars gravelly	2.9	P,28-32 K,48	—	6.6
Suelo arenoso Upland	1.2	—	—	5.0

Katznelson H. y Strzelczyk E. (1961).

TABLA (6).-

- PRESENCIA DE AZOTOBACTER EN SUELOS RIZOSFÉRICOS Y NO RIZOSFÉRICOS.

PLANTA	ESTACIÓN DE CRECIMIENTO	TIPO DE SUELO	NÚMERO DE AZOTOBACTER ⁺			OBSERVACIONES
			SUELO RIZOSFÉRICO	SUELO CONTROL	R: C ⁺	
CENTENO	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO FRANCO ARC1	84	13	6.4	COSECHA PRIMAVERA
		LLOSO NORTE GOWER	16	10	1.6	
DUENA	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO FRANCO ARC1	79	8	9.8	COSECHA INVIERNO (1959-60)
		LLOSO NORTE GOWER	28	15	2.1	
	PLANTA DE SEMILLERO	SUELO FRANCO MATILDA	49	24	2.0	COSECHA PRIMAVERA
		LLOSO NORTE GOWER	80	11	7.2	COSECHA INVIERNO (1960-61)
TRIGO	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO FRANCO ARC1	75	9	8.3	COSECHA INVIERNO (1959-60)
		LLOSO NORTE GOWER	28	13	2.1	
	PLANTA DE SEMILLERO	SUELO FRANCO MATILDA	57	24	2.3	COSECHA PRIMAVERA
		LLOSO NORTE GOWER	77	10	7.7	COSECHA INVIERNO (1960-61)
CEBADA	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO FRANCO ARC1	70	13	5.3	COSECHA INVIERNO (1959-60)
		LLOSO NORTE GOWER	70	18	3.8	
	PLANTA DE SEMILLERO	SUELO FRANCO MATILDA	114	16	7.1	COSECHA PRIMAVERA
		LLOSO NORTE GOWER	51	13	3.9	COSECHA INVIERNO (1960-61)
MAIZ	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO ARENOSO GRENVILLE	153	27	5.6	COSECHA PRIMAVERA
			92	49	1.8	
LINO	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO ARENOSO ALLANDALE	211	110	1.9	COSECHA PRIMAVERA
			35	90	0.3	
			75	80	0.9	
CAMPO DE GUI SANTES	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO ARENOSO MANOTICK	88	17	5.1	COSECHA PRIMAVERA
			7	29	0.2	
			0	2	---	

TABLA (6) .- (CONCLUYE)

- PRESENCIA DE AZOTOBACTER EN SUELOS RIZOSFÉRICOS Y NO RIZOSFÉRICOS.

NÚMERO DE AZOTOBACTER⁺

PLANTA	ESTACIÓN DE CRECIMIENTO	TIPO DE SUELO	NÚMERO DE AZOTOBACTER ⁺			OBSERVACIONES
			SUELO RIZOSFÉRICO	SUELO CONTROL	R:C++	
CAMPO DE HABAS	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO ARENOSO ALLANDALE	94	100	0.9	COSECHA PRIMAVERA
			174	139	1.2	
	SUELO ARENOSO KARS GRVELLY	28	10	2.8		
	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO		80	21	3.8	
SOYA	PLANTA DE SEMILLERO	SUELO ARENOSO GRANBY	111	32	3.4	COSECHA PRIMAVERA
			141	54	2.6	
TRIGO SARRACENO	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO		186	29	6.4	
			410	23	17.8	
MOSTAZA	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO		32	27	1.2	
			53	38	1.4	
TABACO	PLANTA DE SEMILLERO FLORECIENDO	SUELO ARENOSO GRANBY	32	27	1.5	PLANTAS DE INVERNADERO
			0	28	---	
AMAPOLA	PLANTA DE SEMILLERO		218	22	9.9	

+ NÚMERO POR G-SECO SUELO DE LA RIZOSFERA LIBRE-RAICES

++ R:C = NÚMEROS DE LA RIZOSFERA DEL SUELO
NÚMEROS EN SUELO CONTROL

TABLA (7).-

INFLUENCIA DEL TIEMPO, ESPECIE DE LA PLANTA, TIPO DE SUELO Y NÚMERO DE AZOTOBACTER EN LA RIZÓSFERA Y SUELO CONTROL.

TIPO DE SUELO	TIEMPO DE LA PLANTA (DIAS)	SUELO CONTROL	SUELO DE LA RIZÓSFERA					
			RABANO	R:C+	CEBOLLA	R:C	TRIGO	R:C
SUELO FRANCO ARENOSO GRANBY	21	805	1116	1.3	958	1.2	3492	4.3
	70	313	469	1.5	321	1.0	6397	20.4
	100	404	370	0.9	280	0.6	----	---
ARENA UPLAND	21	48	169	3.5	86	1.8	2935	61.1
	70	30	176	5.8	20	0.6	4371	145.7
	100	31	414	13.4	44	1.4	----	----

$$+ R:C = \frac{\text{NÚMEROS EN LA RIZÓSFERA DEL SUELO}}{\text{NÚMEROS EN SUELO CONTROL}}$$

++ NÚMERO POR G-SECO, SUELO DE LA RIZOSFERA LIBRE-RAICES

de sembrar son adicionados 3 g de superfosfato ($20\% P_2O_5$) a cada bote y mezclados con el suelo. Un trasplante de tomate y 20 semillas de trigo fueron plantados en cada bote. El inóculo de *Azotobacter* fué hecho al tiempo de sembrar poniendo una gota del inóculo en cada semilla de trigo y 1 ml por trasplante de tomate adicionado directamente a las raíces y después cubriendo con el suelo. Se colocan plantas uninoculadas en botes control. Después de 5 semanas durante las cuales los botes fueron irrigados con poca agua, las plantas se sacaron con todo y raíz, se midieron, se observó su robustez, peso y se midió a cada planta, los resultados obtenidos se encuentran en las tablas (8 y 9).

PLANTA DE TRIGO. La inoculación con *Azotobacter* en trigo tuvo un efecto significativo en el crecimiento, robustez y en la medida de las plantas inoculadas fué superior en control en 24, 36 y 100% respectivamente. Las plantas inoculadas también muestran una mejoría en el crecimiento de las raíces comparadas con las plantas control. En este trabajo se muestran fotografías (desgraciadamente no es posible mostrarlas) de las diferencias en el crecimiento de las plantas inoculadas (y sin inocular) en el tiempo de 5 semanas.

El crecimiento de plantas de trigo por inoculación de *Azotobacter* fué reportado por Rovira (50) y el incremento significativo en la producción fué también obtenido por Brown y col. (15) en lotes y experimentos de campo.

PLANTAS DE TOMATE. La inoculación en las raíces de plantas de tomate en el tiempo de transporte no afectó mayormente el crecimiento de las plantas. Probablemente la respuesta a la inoculación de *Azotobacter* puede ocurrir en una etapa más temprana del desarrollo de la planta (26) Clark (18) y Rovira (50) nos muestran que las clases de *Azotobacter* inoculado no se establecieron en la rizosfera de las plantas de tomate.

En la India (16) al utilizar a *Azotobacter* en sus sue-

TABLA(8) Efecto de la inoculación de semillas con Azotobacter chroococcum en el crecimiento de las plantas de trigo.

Tratamiento	Estatura media de plantas. cm	Peso medio fresco de plantas g	Peso medio seco de plantas/bo te g
Sin inocular (control)	18.5	1.9	0.21
Inoculado	24.5	2.65	0.40

TABLA (9) Efecto de la inoculación de las raíces de trasplantes de tomate con Azotobacter chroococcum en el crecimiento de las plantas.⁺

Tratamiento	Incremento a medio y final del experimento cm	Peso fresco de plantas g	Peso seco de plantas g
Sin inocular (control)	43.2	61.5	6.2
Inoculado	35.7	56.5	7.0

⁺Cada valor es un promedio de 8 réplicas.

los encontraron las siguientes ventajas y desventajas:

Ventajas.- 1) Suelos con pH alcalino y con bastante calcio.

2) Temperatura mesofílica durante el verano.

3) Alta tolerancia de Azotobacter a sales.

Desventajas.- 1) Muy poca materia orgánica en los suelos

2) Muy poca agua que impide el desarrollo de Azotobacter y que por lo tanto se muere.

Los resultados de este estudio nos muestran que Azotobacter no contribuye a la formación de N_2 debido a las condiciones del suelo y sin embargo no puede utilizarse como sustituto de fertilizantes nitrogenados. Azotobacter requiere mayor cantidad de C orgánico para su crecimiento el cual no es posible en estas tierras, es un competidor pobre en el suelo y que por lo tanto, su rango de crecimiento es muy bajo en el campo. Es inefectivo en suelos que son infértiles y bajos en contenido de materia orgánica pero puede ser benéfico en las cosechas produciendo promotores del crecimiento y sustancias fungistáticas lo cual puede ayudar durante la germinación un poco al crecimiento de las raíces, también es efectivo en suelos fértiles donde hay materia orgánica y se adicionan fertilizantes orgánicos en la rizosfera. - (23). Ahora, en nuestros días, es práctica común encontrar en el comercio paquetes (mas o menos 250 g) de preparados (fertilizantes bacterianos) ya sea de Azotobacter o de Rhizobium. Generalmente es recomendado usar este tipo de paquetes en tratamientos de semillas que puedan cubrir un acre de terreno, (220). En estudios realizados recientemente (27) sobre la inoculación de Azotobacter en el desarrollo de trigo y su rendimiento, se observa en la tabla (10) que el incremento en la altura de la planta es superior a las plantas control, además tanto el rendimiento - del grano como el porcentaje de N_2 contenido en las plantas fué -

TABLA(10)- Influencia de las dosis inoculadas de Azotobacter en el crecimiento de las plantas, producción de grano en trigo y N₂ contenido en las plantas.

Tratamiento	Crecimiento de plantas, 90 -- días después. cm	Producción de grano		N ₂ contenido en % (plantas)
		kg/parce la.	Incremento % sobre el control	
T ₁	93.10	1.847	22.15	0.31
T ₂	93.40	1.970	30.28	0.34
T ₃	94.03	1.975	30.61	0.35
T ₄	99.80	1.960	29.62	0.37
T ₅	95.15	1.990	31.60	0.36
T ₆ Control (Sin inoc.)	82.00	1.512	—	0.30

Konde, B.K. (1976).

Medida neta de la parcela: 2.50 x 2.00 M²

Medida total o bruta de la parcela: 3.00 x 2.50 M²

significativamente superior sobre el control (sin inocular) debido al crecimiento de Azotobacter.

Se han investigado diversos métodos para un mejor rendimiento en las cosechas (como se ha visto hasta ahora). Los siguientes trabajos son un tanto exóticos pero han tenido buenos resultados. (30)

EFEECTO EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE ALGUNAS COSECHAS DE VEGETALES AL HUMEDECER LAS SEMILLAS CON SOLUCION DE ELEMENTOS EN CANTIDADES HUELLA CON AZOTOBACTER.

Semillas cubiertas con materiales secos conteniendo elementos en cantidades huella son vendidos comercialmente para usarse en campos con deficiencia de elementos esenciales en el medio ambiente. Recientemente se han humedecido a las semillas con elementos en cantidades huella poco antes de sembrarlos, para eliminar los síntomas deficientes, incrementando el rango de la germinación induciendo a un mejor desarrollo de las plantas y dando un resultado grande en el rendimiento (9). También se ha intentado mejorar el crecimiento y el incremento en la producción inoculando a las semillas con preparaciones de Azotobacter. Pocos experimentos han sido afortunados por esta inoculación, ya que las respuestas más favorables han sido en invernaderos y bajo condiciones controladas (15).

Los pre- sembrados de tubérculos de papa tratados con solución de molibdato de amonio seguido por un tratamiento con azotobacterinas incrementan el rendimiento de los tubérculos en un 17.8% (9). Tratando a las semillas de papa sólo con Azotobacter no se produce incremento en el rendimiento de los tubérculos (9).

En la granja de la Facultad de Agricultura de Tripoli, se realizó una investigación sobre la respuesta a las diferentes cosechas de vegetales inoculadas con Azotobacter en condiciones

El efecto de humedecer a las semillas en una solución diluída de elementos en cantidades huella en el desarrollo y producción de vegetales en un suelo arenoso calcáreo también fué probado (9).

Los resultados fueron los siguientes: la inoculación de Azotobacter y las semillas humedecidas con elementos en cantidades huella afectaron grandemente el crecimiento vegetativo de las plantas durante la estación o etapas de semillado. Los datos obtenidos en promedio de la longitud de las semillas, número de hojas por planta en peso seco y fresco de las 4 siembras establecidas son mostradas en (11).

En col y coliflor, la mejora en el crecimiento de las plantas de semilla humedecidas en elementos en cantidades huella muestran un efecto adverso. El número de la microflora total no fué afectado grandemente por la inoculación de las semillas.

La razón del efecto depresivo mostrado en la tabla (11) no es nuevo; es muy probable que la concentración relativamente alta de elementos en cantidades huella puedan inhibir a la actividad enzimática en tejidos jóvenes.

Recordando a Brown y col. (15) la estimulación en el crecimiento inducido por la inoculación de Azotobacter, no parece ser un resultado de la fijación de N_2 , o de un efecto dañino, sino por medio de la producción de substratos o sustancias promotoras del crecimiento en la rizosfera de las plantas inoculadas.

En el estudio antes citado, las cosechas de vegetales variaron en la respuesta a la inoculación. Col y cebolla fueron 2 cosechas altamente estimuladas por Azotobacter. La variabilidad en la respuesta a la inoculación puede ser debida a la variación entre las diferentes plantas que soportan el crecimiento de Azotobacter y su multiplicación en la rizosfera.

En otro estudio realizado para ver la germinación de se-

TABLA (11).- Efecto de la inoculación de Azotobacter y del baño a las semillas, en el crecimiento de algunas cosechas de vegetales.

	Largo de las plantas de - semilla cm.	Núm. de hojas/ planta de semilla	P. fresco de 10 --- plantas de semilla gm	P. seco de 10 - plantas de semilla gm
COL				
1.- Control	13.0	3.9	15.0	1.32
2.- Bañadas	10.6	3.7	10.9	0.87
3.- Inoculadas	16.3	4.7	28.1	3.5
4.- Bañadas e inoculadas	13.7	4.5	19.2	2.07
COLIFLOR				
1.- Control	12.8	3.7	14.4	1.9
2.- Bañadas	11.0	3.5	13.3	1.2
3.- Inoculadas	14.6	4.1	20.5	2.0
4.- Bañadas e inoculadas	12.2	3.8	13.5	1.4
CEBOLLA				
1.- Control	18.4	---	5.6	0.6
2.- Bañadas	15.6	---	2.7	0.31
3.- Inoculadas	25.8	---	8.0	0.95
4.- Bañadas e inoculadas	18.0	---	2.9	0.4
LECHUGA				
1.- Control	11.0	3.8	11.4	0.71
2.- Bañadas	8.5	3.6	5.4	0.3
3.- Inoculadas	11.9	4.0	14.4	1.0
4.- Bañadas e inoculadas	8.2	4.0	8.3	0.45

millas de maíz inoculadas con Azotobacter, se vió después de una serie de métodos que el mejor de ellos fué el de sembrar a las semillas inoculadas en bolsas de polietileno (29).

Es probable que Azotobacter no puede en ocasiones estimular a las plantas para un mejor desarrollo y producción debido a que lo lisen cierto tipo de bacteriófagos.

Un estudio realizado en suelos checoslovacos sobre bacteriófagos de Azotobacter; se incluyeron 16 ejemplos representativos de suelos de Ruzyne, Praga. El efecto a largo plazo de la -- aplicación de fertilizantes minerales (N,P,K) y estiércol orgánico (enriquecido con muy poco nitrógeno orgánico) más el suelo -- con Azotobacter y sus fagos fueron investigados. Los fagos fueron inoculados pero unicamente sobrevivieron en suelos ocasionales.

4 diferentes tipos de fagos fueron obtenidos, el microscopio electrónico mostró que los fagos pertenecen al grupo de -- gran apéndice no contráctil, contráctil y pequeño apéndice contráctil. El huésped del ensayo nos muestra que se lisaron A. --- chroococcum , A. vinelandii y un poco A. beijerinckia, pero ninguno perteneciente a A. macrocytogenes, A. agilis y a A. insignis (24).

6.3 INTERACCION DE AZOTOBACTER Y OTROS MICROORGANISMOS.

Observando a los fijadores de nitrógeno no simbióticos, se puede ver que gran cantidad de nitrógeno es absorbido cuando los fijadores de nitrógeno se cultivan en asociación de otros microorganismos tanto en un medio natural como en un medio o cultivo puro.

Se ha visto que Azotobacter chroococcum fija más nitrógeno cuando crece en asociación con otras bacterias como son Agrobacterium, Aerobacter y Clostridium en un cultivo puro, también con algunas clases de Achromobacter, Aerobacter, Clostridium, Pseudomonas, Rhizobium y diversos actinomicetos.

La relación mutualista entre Clostridia (especialmente C. pasteurianum) y Azotobacter es nueva y fué descrita por Ruben chik (51).

Algunos investigadores (51) describen experimentos en los cuales productos de descomposición de otras bacterias son utilizadas por Clostridia fijadoras de nitrógeno. Okuda(44) nos dice que Rhodospseudomonas capsulatus fija más nitrógeno cuando crece en asociación de A. vinelandii y Bacillus subtilis que cuando se encuentra en cultivo puro en las mismas condiciones. Se ha mostrado que en presencia de Aureobasidium pullulans estimula la fijación de nitrógeno por algunas especies de Azotobacter vitreum, generalmente existe una gran fijación de nitrógeno por parte de Azotobacter en presencia de protozoa que en su ausencia.

Fertilizantes bacterianos son preparados con bacterias vivas y son aplicados a semillas y raíces para mejorar las cosechas.

Cultivos de nódulos de bacteria (Rhizobium spp.) tienen un uso extensivo para este propósito y no existen controversias

para su utilización. En Europa y la Unión Soviética son aplicados como una preparación llamada "Nitragina". Los agricultores soviéticos también aplican otros fertilizantes bacterianos "Azotobacterinas" preparados con Azotobacter spp. y Fosfobacterinas preparadas con Bacillus megaterium var. fosfaticum.

Al inocular se puede esperar que mejore el crecimiento de la cosecha unicamente cuando las bacterias se vierten en el cultivo en la rizosfera. Algunos autores (6) encontraron que al cultivar Azotobacter en la rizosfera, hubo un incremento en la producción de plantas de semilla jóvenes de crucíferas y pastos, pero al inocular gradualmente bacterias en cereales estos se marchitaron, tal vez debido a la actividad antagonista de microbios en la rizosfera. Se obtuvo un buen establecimiento (6) de Azotobacter en la rizosfera de cereales y otros cultivos por inoculación de las semillas, raíces o suelo, gran número de Azotobacter se mantienen hasta la cosecha.

Inoculando la rizosfera de las plantas con microorganismos puede temporal o permanentemente cambiar el balance de la población de la rizosfera. Tal cambio puede ayudar algunas veces al crecimiento de las plantas, dependiendo de la duración del efecto, en este respecto los fertilizantes bacterianos preparados con Azotobacter, Rhizobium y solución de fosfobacterias son usadas extensamente (41), cuando Rhizobium usado como inoculante de semilla es muy benéfico porque a las plantas les brotan en sus raíces nódulos, los cuales fijan nitrógeno simbióticamente.

Azotobacter y fosfobacterias, como quiera que sea, tienen que establecerse en la rizosfera en competencia con otros muchos microorganismos perturbando el balance normal biológico en la zona de las raíces. Azotobacter y fosfobacterias son inoculadas en la rizosfera del suelo de diferente fertilidad, sin faltar

el excremento, que tiene una influencia recíproca en el establecimiento de la región o área de la raíz. Los efectos de tales establecimientos de bacterias en el crecimiento de las plantas son descritos enseguida: la tabla (12) nos muestra el número de -- Azotobacter que creció en la rizosfera tanto con estiércol como sin él. La tabla (13) nos resume los resultados obtenidos 6 - semanas después de trasplantados. El efecto de inoculación dual (Azotobacter + fosfobacterias) fué significativo cuando fué adicionada materia orgánica, especialmente en el suelo núm. 1 .

Azotobacter estimula claramente a la población natural de bacterias solubilizadoras de fosfatos en la zona de la raíz comparando los tratamientos C y A (14). En el suelo núm. 1 con estiércol, el número de Azotobacter en la rizosfera permanece alto ($3-8 \times 10^5$ Azotobacter/g de suelo seco) aún 8 semanas después de la inoculación hasta cuando las bacterias (Fosfobacterias) son - inoculadas. La inoculación de bacterias al suelo núm. 8 con estiércol suprimió el crecimiento de raíces, esto podría ser quizás debido a que las bacterias inoculadas producen sustancias - pertenecientes a las giberelinas auximas y tipos de citoquininas (41).

Como quiera que sea, Azotobacter fija un poco de N_2 y semejante mecanismo tiene fuerte influencia tanto para las plantas como para bacterias. Los inóculos usados fueron seleccionados -- por su capacidad de producir hormonas en las plantas, por su habilidad de fijadoras de N_2 y solubilizadoras de fósforo (41). -- De los resultados obtenidos se deduce que hubo un efecto grandepositivo tanto en plantas como en bacterias.

En Ottawa (52) en la Granja Central Experimental, realizaron un estudio el cual trata de correlacionar el bajo número de Azotobacter en la rizosfera con la incidencia de bacterias y actinomicetos antagonistas del organismo.

TABLA(12).- Número de Azotobacter en la rizosfera de lavandas.

Suelo Núm.	Materia orgánica adic.	Tratam. inoculac.	Núm. ($\times 10^3$)/g suelo seco rizosfera, semanas después de inoculadas.				
			6	8	10	12	16
1	2%	A	1020	292	157	65	9
		A + P	2099 ⁺⁺	801 ⁺⁺⁺	480 ⁺⁺	352 ⁺⁺⁺	283 ⁺⁺⁺
1	0	A	236	153	18	8	3
		A + P	1160 ⁺⁺⁺	250 ⁺	44 ⁺	27 ⁺⁺⁺	7 ⁺
8	2%	A	1600	211	143	56	27
		A + P	1500	272	186	120 ⁺	55 ⁺
8	0	A	901	180	80	77	29
		A + P	1900	760 ⁺⁺⁺	212 ⁺⁺	159 ⁺	58 ⁺

Nota: A=Azotobacter-botes inoculados; P= fosfobacteria-botes inoculados. Significancia de 0.1%(+++), igual a 1%(++), y 5%(+). A + P vs. A -- tratamientos que son comparados para cada suelo experimental.

Strzelczyk, E. (1961).

TABLA(13).- Población natural de Azotobacter en la rizosfera de lavanda 6 semanas después de la inoculación.

Suelo Núm.	Materia Orgánica	Núm. ($\times 10^3$)/g suelo rizosférico seco	
		Control	Fosfobacterias inoculadas
1	2%	0.8 \pm 0.1	2 \pm 0.1
1	0	1 \pm 0.1	3 \pm 0.2
8	2%	5 \pm 0.3	6 \pm 0.4
8	0	4 \pm 0.3	19 \pm 1.2

Strzelczyk, E. (1961).

TABLA (14).- Número de bacterias solubilizadoras de fosfatos en la rizosfera de lavanda.

Suelo Núm.	Bacteria orgánica añadida	Tratamiento inoculación	Núm. ($\times 10^3$)/g suelo rizosférico seco, semanas después de la ino- culación.	
			0	16
1	2%	C	400 + 35	120 + 11
		A	750 + 70	1600 + 170
		P	2083 + 185	2600 + 190
		A + P	9400 + 725	10000 + 800
1	0	C	300 + 31	81 + 4
		A	673 + 53	555 + 33
		P	1530 + 148	1650 + 120
		A + P	4000 + 275	2500 + 190
8	2%	C	375 + 32	193 + 12
		A	1730 + 140	630 + 51
		P	6000 + 425	3900 + 193
		A + P	7600 + 412	4030 + 180
8	0	C	300 + 27	114 + 7
		A	500 + 31	325 + 32
		P	1600 + 120	530 + 50
		A + P	2600 + 135	1000 + 79

Nota: C=control, A= Azotobacter botes-inoculados, P=fosfobacteria-botes inoculados.

Strzelczyk, E. (1961).

ACTINOMICETOS ANTAGONISTAS DE AZOTOBACTER.

Aunque la incidencia en el porcentaje de actinomicetos antagonistas es generalmente en suelos no rizosféricos un gran número se encuentra en la rizosfera. El más sorprendente efecto en las plantas fué obtenido con cebolla en ambos suelos, especialmente a los 100 días. El suelo arenoso cubierto con arcilla Granby contiene más antagonistas que el suelo Upland Sand.

BACTERIAS ANTAGONISTAS DE AZOTOBACTER.

Son numerosas las bacterias antagonistas de Azotobacter tanto en la rizosfera como en el suelo control. La supresión de la fijación de N_2 por estos organismos presupone la producción de sustancias inhibitorias en ambos, rizosfera y no rizosfera -- únicamente en condiciones naturales. Se ha demostrado también -- por Krasilnikov (52) que los suelos ricos en materia orgánica contienen mayores cantidades de actinomicetos antagonistas que en suelos pobres. Azotobacter siendo un organismo de crecimiento retardado no puede competir prósperamente con estos organismos. Un trabajo reciente (52) nos muestra que un bajo pH puede inhibir el desarrollo de Rhizobium en la rizosfera de plantas leguminosas. Condiciones desfavorables para Azotobacter existen en ambos suelo y rizosfera, las cuales pueden suprimir su desarrollo. Los más probables son los efectos acumulativos de producción de antibióticos y competencia. Estos efectos son acentuados en la zona de la raíz debido al intenso desarrollo y actividad de esta población microbiana. En la India (27) se realizaron estudios para observar los efectos de la inoculación de soya con Azotobacter y Rhizobium comparativamente y su efecto asociado sobre la producción. En general Azotobacter no incrementó la producción significativamente. La muestra de las 2 cepas de Rhizobium utilizadas tampoco dió incrementos significativos aunque la inoculación individual de cada cepa de Rhizobium si aumentó la produc--

ción y este aumento fué superado cuando se inoculó con la mezcla de Azotobacter y Rhizobium o mezcla de ambas cepas de Rhizobium y Azotobacter. En general, la inoculación con esta última mezcla de Azotobacter y las cepas de Rhizobium Nanking y USDA, constituyó el mejor inoculante para la variedad Punjab 1, aumentando su producción 4 veces más con respecto al control. La mezcla de Azotobacter y la cepa USDA, aumentó la producción en la variedad Clark-63 por arriba del aumento dado por USDA individualmente y se concluye que Azotobacter actúa en los estadios iniciales del crecimiento de la planta y al mismo tiempo acelera la actividad de Rhizobium a través de la síntesis de vitaminas y factores de crecimiento como la biotina. Pero de cualquier forma Azotobacter, individualmente, no aumentó la producción significativamente(47).

EFFECTO DE LA INOCULACION DEL SUELO CON AZOTOBACTER,
SOBRE LA NODULACION, CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE -
SOYA INOCULADA CON RHIZOBIUM JAPONICUM.

En la India se produjo un experimento de campo (48) -- con el propósito de estudiar el efecto de la inoculación del suelo con Azotobacter sobre los parámetros antes citados, se utilizó suelo arcilloso arenoso rojo. La inoculación se efectuó con un cultivo de Rhizobium japonicum y un cultivo de A. chroococcum 15×10^8 células (grano) a la dosis de 30 g por parcela. Se aplico abono en forma de estiércol (20 ton./ha) antes de sembrar con el propósito de tener condiciones óptimas para el crecimiento de Azotobacter.

La inoculación de plantas con Rhizobium + Azotobacter -- aumentó el rendimiento en 231.2 % sobre el control, mientras que la inoculación con la cepa de Rhizobium, dió un rendimiento sobre el control de 217.40 % lo que indica que la inoculación con un cultivo eficiente de Rhizobium es tan buena, como la inocula-

ción con Rhizobium + Azotobacter, ya que la diferencia en producción no es significativa. La inoculación del suelo con Azotobacter tampoco contribuyen a una mejor nodulación ni mejor fijación de N_2 por parte de Rhizobium aunque de cualquier manera, -- las plantas parecen obtener beneficios de la inoculación del suelo con Azotobacter, debido probablemente a la producción de compuestos biológicamente activos como ácido indolil 3-acético y -- giberelinas, las cuales estimulan la proliferación de las plantas y aceleran su crecimiento.

En la Universidad de Oklahoma (35) se realizó un estudio sobre el efecto de las bacterias de la rizosfera de Aristida oligantha con Rhizobium y Azotobacter. La total interacción entre las bacterias de la rizosfera y las bacterias fijadoras de -- nitrógeno produjeron 14 casos de inhibición y únicamente 3 de es -- timulación. Esto indica que las bacterias de la rizosfera de --- Aristida oligantha son generalmente inhibitorios a bacterias fijadoras de nitrógeno. Esta actividad alelopática puede ser un -- factor adicional en tardar la inoculación de N_2 y prolongar la -- estación anual de pastos y revegetación de viejos campos en Okla -- homa.

7. INTERACCION DE ABONOS ORGANICOS Y AZOTOBACTER.

Muchos investigadores han observado que la inoculación con Azotobacter en asociación con fertilizantes, ya sea minerales u orgánicos, aumenta los nutrientes contenidos y la proliferación de dichos microorganismos (34).

La aplicación de fertilizantes de una gran variedad es práctica común que puede influir en la fisiología del tratamiento de plantas y consecuentemente en los efectos de la rizosfera.

La rizosfera, puede ser considerada metabólicamente la región más activa con microflora variante dependiendo del género edad y estado de crecimiento de las plantas al adicionar al suelo en estas condiciones. Estos microorganismos rizosféricos pueden incrementar la utilización de nutrientes en el crecimiento de las plantas.

La escasa información útil en ésta línea puesto que existen pocos estudios en cuanto a la interacción que haya o pueda haber de Azotobacter con abonos y específicamente en este caso con gallinaza.

En el trabajo realizado por Azcón y col. (6) se tratan los aspectos relacionados con el empleo y modo de acción de fertilizantes microbianos, relacionando su uso con la existencia de materia orgánica en el suelo y la presencia de dosis adecuadas de nutrientes inorgánicos. De las conclusiones de tal revisión se deduce que los problemas a resolver para el empleo de fertilizantes microbianos son los siguientes:

- I) Selección adecuada de los microorganismos.
- II) Estudio de las condiciones para mejorar el establecimiento de los inóculos en la rizosfera.
- III) Estudio de las condiciones adecuadas para lograr una alta eficacia de los microorganismos inoculados.

En un estudio realizado en la Estación Experimental de Zaidín Granada (6) sobre fertilización biológica en combinación con fertilización química y orgánica de plantas de tomete - cultivadas por el sistema de "enarenados", se utilizaron 2 razas de Azotobacter y una raza de una bacteria solubilizadora de fosfatos.

Los resultados obtenidos mostraron lo siguiente:

a) Las fosfobacterias parecen contribuir de algún modo a la implantación de Azotobacter, esto se observa en los tratamientos A + P.

b) El abono N - P - K tiene una influencia importante sobre el número de células de Azotobacter.

c) El abono N - P - K inicial parece ser de gran importancia en relación con la supervivencia de Azotobacter, para que la segunda dosis de abonado en floración tenga efectos positivos ya que los Azotobacter no se desarrollan bien en ausencia de N-P-K.

d) Las fosfobacterias inoculadas no se mantienen en número predominante hasta el fin de la experiencia.

e) Azotobacter estimula a las poblaciones solubilizadoras de fosfatos tanto en los inoculados como en los autóctonos.

f) El abonado N-P-K provoca una estimulación de las fosfobacterias.

Los resultados ponen de manifiesto una acción clara e importante de los inóculos microbianos con predominio en A + P pudiendo deducirse que Azotobacter y fosfobacterias actúan sinérgicamente y que, por lo tanto, esto redundará en beneficio del vegetal.

El empleo simultáneo de Azotobacter con fosfobacterias - ha sido ensayado en otras ocasiones (53). De dichos trabajos se deduce que, para conseguir éxito con tales mezclas de microorganismos es necesario suplementar con abono orgánico e inorgánico.

co.

El siguiente estudio fué realizado para observar el efecto de fertilizantes orgánicos y minerales e Azotobacter en un -- sembradío de arroz (49). Pequeñas proporciones de suelo son recolectadas de un campo de arroz con diferentes tratamientos. La adición de materia orgánica es en dos partes (5 y 10 ton/ha) -- ésto mejoró significativamente la población de Azotobacter en -- suelo inundado, además la aplicación combinada de paja de arroz 5 ton/ha con fertilizantes minerales acrecienta la multiplica--- ción de Azotobacter.

La fijación del nitrógeno es estimulada cuando compuestos de humus son agregados al medio inoculado con Azotobacter y también ocurre un abundante crecimiento de Azotobacter en suelos pobres en N_2 enriquecidos con paja de arroz. Recientemente Ibrahim (25) reporta que el estiércol orgánico incrementa a la población de Azotobacter y por lo tanto aumenta la fijación de Azotobacter; e incrementando dosis de fertilizante nitrogenado baja la población de Azotobacter en suelos inundados.

Revisando otro estudio para ver el efecto de la inoculación de Azotobacter en la rizosfera de cosecha de arroz fertilizada que se realizó en el Centro de Investigación de Pura, Distrito de Kampur (India) (34); el resultado fué el siguiente:

Las condiciones de fertilidad en botes (detalles en la - tabla 15) son creados artificialmente por la aplicación de fertilizantes en forma de urea, superfosfato y mureato de potasio.

La tierra adherida a las raíces de las plantas es cepilla da para obtener a las bacterias que se encuentran adheridas ahí; esto es recomendado por Starkey (34). Al término de una serie - de pasos se observó que hubo una marcada respuesta en la cosecha de arroz al inocular a Azotobacter (15). En los botes testigo su producción máxima fué de 9.6 g por planta, en los botes ino-

culados fué de 10.4 g por planta aún cuando los dos fueron ferti-
lizados con $N_{60}P_{60}K_{60}$ nivelándolo con estiércol, pero en plantas
inoculadas este desarrollo no fué aparente hasta que el arroz al-
canzó la fase reproductiva. Las raíces de las plantas inoculadas
brotaron una semana antes que las de las plantas control. La ta-
bla (16) nos muestra a colonias pobres de Azotobacter justamen-
te después del trasplante de arroz, pero según aumenta la edad -
de la planta incrementa el potencial colonizando de 44×10^5 a $108 \times$
 10^5 . La población de Azotobacter, además, parece ser influencia-
da favorablemente por los nutrientes de las plantas. Comparando-
el número de Azotobacter establecido con la rizosfera con el nú-
mero establecido a través de la inoculación nos muestra una nota-
ble respuesta y tendencia de colonización de este organismo la -
cual varió:

TRATAMIENTO	NUMERO DE MICROORGANISMOS
$N_{30}P_{60}K_{60}$	De 69×10^5 a 90×10^5
$N_{60}P_{60}K_{60}$	De 101×10^5 a 108×10^5
$N_{120}P_{60}K_{60}$	De 90×10^5 a 90×10^5

Una cuenta significativa de Azotobacter es registrada --
cuando tiene $N_{60}P_{60}K_{60}$. Estos valores indican que Azotobacter --
es una colonia pobre en la rizosfera pero su establecimiento es
más pronunciado en presencia de nutrientes e inóculos.

Tanto Azotobacter como el total de la población bacteria-
na nos va mostrando un ascenso gradual cuando la planta va cre-
ciendo, pues aumentan de 21×10^7 a 109×10^7 . Además la presen-
cia de nutrientes ayuda a la proliferación total de las bacte-
rias de la rizosfera de arroz. Los valores obtenidos en la esta-
ción de pre floración son del orden de ;

TABLA (15)..- Efecto de la inoculación de Azotobacter en el desarrollo de 8 plantas de arroz bajo condiciones variables de fertilidad.

Fertilidad a nivel de tratamientos.			Rendimiento en peso seco por planta (g)		Aumento del porcentaje s/plantas no inoculadas.	
(Kg/ha)			Nil Inóculo	Azotobacter Inóculo		
N	P	K				
0	60	60-F ₁	nivelado.	3.50 (100)	5.74 (100)	64
30	60	60-F ₂	"	7.50 (214)	8.25 (144)	10
60	60	60-F ₃	"	9.37 (268)	10.39 (181)	11
20	60	60-F ₄	"	8.75 (250)	9.25 (161)	6

Las figuras en parentesis representan incremento en por ciento sobre el control, el cuál es de 100.

TABLA (16)..- Influencia de la inoculación en las semillas de -- arroz bajo distintas condiciones de fertilidad en la rizosfera - de Azotobacter y poblaciones de bacterias totales.

Tratamiento			<u>Azotobacter rizosférico (Az) y población total bacteriana(T.B) por g de suelo</u>						
			Estación de presembrado	E. sembrado		E. postsembrado			
N	P	K	Az (x 10 ⁵)	T.B. (x10 ⁷)	Az (x10 ⁵)	T.B. (x10 ⁷)	Az (x10 ⁵)	T.B. (x10 ⁷)	
0	60	60-F ₁	Sin inoc.	44	21	54	35	64	40
0	60	60-F ₁	Inoculado	51	21	57	37	70	42
30	60	60-F ₂	sin inoc.	47	21	51	43	70	45
30	60	50-F ₂	Inoculado	55	22	59	45	71	46
60	60	60-F ₃	Sin inoc.	50	23	69	62	78	63
60	60	60-F ₃	Inoculado	68	28	77	73	82	78
120	60	60-F ₄	Sin inoc.	47	23	57	49	72	49
120	60	60-F ₄	Inoculado	57	28	67	52	78	53
C. D. a 5%				18		13		19	

TRATAMIENTO	NUMERO DE MICROORGANISMOS
N ₁₂₀ P ₆₀ K ₆₀	De 86 x 10 ⁷ a 98 x 10 ⁷
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	De 86 x 10 ⁷ a 109 x 10 ⁷
N ₃₀ P ₆₀ K ₆₀	De 72 x 10 ⁷ a 83 x 10 ⁷
N ₀ P ₆₀ K ₆₀	De 55 x 10 ⁷ a 66 x 10 ⁷

La óptima tendencia de colonización se ve en la estación de pre floración que puede ser tal vez el resultado de la habilidad de incrementar exudados solubles conteniendo bastantes nutrientes requeridos por los microorganismos. La multiplicación rápida de las bacterias puede envolver el secreto del crecimiento produciendo substancias importantes que incrementan el crecimiento de las plantas.

8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Debido a la falta de información y de estudios realizados en México, poco se sabe de los desperdicios orgánicos tales como basuras, excrementos y otros de ciertas industrias que pueden -- ser utilizados como abonos redundando ésto en beneficio tanto -- económico como en la descontaminación ambiental.

Una vez revisadas todas las situaciones referentes a la gallinaza, a su posible interacción con Azotobacter y al efecto de ambos en los vegetales, es conveniente hacer notar los siguientes aspectos:

1. La gallinaza, al menos en los estudios analizados, ha actuado favorablemente como abono, inclusive con unefecto residual grande (3 - 4 años).

2. Acerca de la interacción gallinaza-Azotobacter, poco se sabe, ya que se han realizado exiguos trabajos referentes a esta situación. Pero se ha observado que utilizando otros microorganismos como las Fosfobacterias éstas actúan sinérgicamente beneficiando al vegetal.

3. También se ve que al utilizar abonos minerales con -- Azotobacter, se relacionan entre sí dando buenos resultados.

4. Lo que si se recomienda es utilizar la gallinaza en cantidades moderadas y sólo en ciertos casos con algún fertilizante mineral, pero esto será en casos como cuando el vegetal al que se va a abonar necesite un macronutriente en el cuál la gallinaza sea deficiente: de no ser así y darle a los vegetales un exceso estos macronutrientes, en vez de beneficiarlos se les perjudicará irremediablemente.

9. BIBLIOGRAFIA.

1.- Alvarado, B. A. Influencia de algunos factores ambientales en la respuesta del rendimiento de grano de maíz de temporal a diferentes niveles de nitrógeno, fósforo y densidad de población, en la Zona Oriental del Valle de México. Tesis Doctor en Ciencias C.P. Chapingo, Méx. (1975).

2.- Anderson S.M. Utilización del abono de establo. La Hacienda. vól. 57. (1962).

3.- Anónimo. El estiércol de las aves es un abono fuerte La Hacienda. agosto vól. 58 (1963).

4.- Avicultura Técnica. Núm. 106: 40-42. (1970).

5.- Avicultura Técnica. Núm. 159: 2-3 (1974).

6.- Azcón, R., Gómez, M. y Barea, J. Efectos de la aplicación conjunta de fertilizantes químicos y microbianos (Azotobacter y Fosfobacterias) en cultivos "Enarenados" de tomate. Anales de Edafología y Agrobiología. Págs. 863-878. (1973).

7.- Azcón, R. y Barel, S., M. Síntesis de auxinas giberelinas y citokininas por A. vinelandii y A. beijerinckia relacionado al efecto producido en plantas de tomate. Plant and Soil. 43: 609-619. (1975).

8.- Badawy H. Farida y Amer, B. S. Efecto de la inoculación con Azotobacter en el desarrollo de plantas de trigo y tomate. The Libyan Journal of Agriculture. Vol. 3: 141-143. (1974).

9.- Badawy, H. Farida y Mostafa K.I. Efecto de la inoculación de semillas con Azotobacter y empapadas con una solución de elementos en cantidades huella, en el crecimiento y producción de algunas cosechas de vegetales. The Libyan Journal of Agriculture. Vol. 4: 69-78. (1975).

10.- Badawy, H. Farida (Dep. Soil and Water, Fac. Agric. Univ. Tripoli, Tripoli, Libya). Estudios de las bacterias fijadoras de nitrógeno del género Azotobacter en suelos del Líbano. Libyan -

J. Agric. 3:109-118 (1974).

11.- Beanblossom, F.Z., M.M. Miller y Bennet, W.F. Cómo aplicar eficazmente el estiércol de las aves. La Hacienda. Abril vol. 61. (1966).

12.- Becking, J.H. Estudios de las bacterias fijadoras de nitrógeno del género Beijerinckia. Plant and Soil. 14:49-81. (1961).

13.- Brown, M.E. Burlingham K.S. y Jackson, R.M. Estudio de especies de Azotobacter en el suelo. I. Plant and Soil XVII: 309-319. (1962).

14.- Brown, Margaret, E. Burlingham, K. Susan y Jackson, R.M. Estudio de las especies de Azotobacter en el suelo. II. Poblaciones de Azotobacter en la rizosfera y efectos de una inoculación artificial. Plant and Soil. XVII:320-332. (1962).

15.- Brown M.E., Burlingham, K.S. y Jackson, R.M. Estudio de las especies de Azotobacter en el suelo. III. Efectos de una inoculación artificial en campos de cosecha. Plant. and Soil XX:194-214. (1964).

16.- Brown M.E., y Burlingham K.S. Producción de sustancias para el desarrollo de las plantas por Azotobacter chroococcum. J. Gen. Microbiol. 53:135-144. (1968).

17.- Castro, Z.R. Efectos de la gallinaza al combinarla con fertilizantes nitrogenado y fosfórico sobre el rendimiento del maíz de temporal en la región de Chalco-Amecameca. Tesis Ing. Agrónomo. Chapingo, Méx., E.N.A. (1976).

18.- Clark, F.E. Inoculación de Azotobacter en cosechas. III. Recuperación de Azotobacter de la rizosfera. Soil. Sci. 65:193-202. (1948).

19.- Cruz Medrano, S y Fernández, González, R. Construcción de estercoleros como alternativa para manejo del estiércol con fines agrícolas; proyecto en Santa Catarina Acolman, Edo. de México. Chapingo, Nueva Epoca. 4:40-49 (1977).

20.- Dube, J.N. Cultivos bacteriales, un posible análogo de los fertilizantes químicos. *Curr. Sc.*, 44:405. (1975).

21.- Guanos y Fertilizantes de México S.A. Guanomex, -- (S.p.i.) V₁ y V₆. 1970-1976.

22.- González, A.J. Las aves de corral fertilizan al suelo. *La Hacienda. Dic.*, Vól. 52. (1957).

23.- Goswami, K.P. Trabajo sobre Azotobacter como un -- fertilizante bacteriano. *Fert. News. Nov.*:32-34. (1976).

24.- Hegazi, A.N. Bacteriofagos de Azotobacter en suelos checoslovacos. *Sumario Biological Abstracts. Plant and Soil* 45: 379-395. (1976).

25.- Ibrahim, A.N. Abstract en *Soil and Fertilizers* 37: 3772 (1974).

26.- Jackson, M.R. Brown E. Margaret y Burlingham K. Susan. Efectos similares en plantas de tomate de inoculación de Azotobacter y aplicación de giberelinas. *Nature. Agosto* 22:831-832. (1964).

27.- Jain, M.K., Rewari, R.B. Estudios de la inoculación - de Azotobacter y Rhizobium en soya. (1) Div. Microbiol. Indian - Agric. Res. Inst., New Delhi, India, (2) *Agricultura Belgium*, 23, 1: 37-46. (1975).

28.- Jones, J.L. Evaluación del Zn extraído por métodos químicos y por plantas de maíz, al aplicar Zn y gallinaza en el suelo de Tlaxcala. Tesis. M.C. C.P. Chapingo, Méx. (1974).

29.- Khatri, A. y Bhide, V.P. Estudios de la germinación de semillas en bolsas de polietileno; Un nuevo método. *Indian - J. Microbiol.* 16(2):92-93. (1976).

30.- Konde, B.K. y Desai J.N. Influencia de la inoculación de dosis de Azotobacter en el crecimiento y producción -- de trigo. *Food Farming and Agriculture. Sep.*:13-14 (1976).

31.- Katznelson, H. y Strzelczyk, E. Estudios en la interacción de microorganismos libres fijadores de N₂ y las plantas.

Can. J. Microbiol. Vol. 7:437-446. (1961).

32.- Katznelson, H. y Rouatt, J.W. Estudios en la incidencia de ciertos grupos fisiológicos de bacterias en la rizosfera. Can. J. Microbiol. 3:265-275. (1957).

33.- Leheri, L.K. y Mehrotra, C.L. Efecto de la inoculación de Azotobacter en el rendimiento de cosechas de vegetales. Indian J. Agric. Res. 6:201-204. Citado en Microbiol. Abst. 8: Abst. Núm. 8590 (1972).

34.- Lehri, L.K. y Tiwari, V.N. Efectos de la inoculación de Azotobacter en la rizosfera de la cosecha de arroz fertilizada. Indian J. Agric. Res. 10(1):39-42. (1976).

35.- Leuck, Edwin E. II y Rice, Elroy, L. Efecto de rizosfera de bacterias de Aristida oligantha en Rhizobium y Azotobacter Bot. Gaz. 137(2):160-164. (1976).

36.- Loperfido, B. y Sadoff, M.L. Germinación de quistes de Azotobacter vinelandii: secuencia de una síntesis macromolecular y fijación de N_2 . J. Bacteriol. 113:841-846. (1973).

37.- Martínez, H. J. de Jesús. Estudio preliminar sobre la eficacia de la gallinaza como fertilizante para varios cultivos hortícolas. Tesis. Chapingo, Méx. ENA (1977).

38.- Meckell, C.M. La gallinaza: buen fertilizante de los pastizales. La Hacienda. Julio, Vol. 64. (1976).

39.- Mestanza, S. Variaciones nutrimentales en el maíz - H-30 y en el suelo de Puebla, por efecto de las aplicaciones de gallinaza, magnesio, manganeso y zinc bajo condiciones de invernadero. Tesis de M.C., C.P. E.N.A. Chapingo, Méx. (1973).

40.- Minchin, F.R. y Pate, J.S. El balance del carbono de una legumbre, y la economía funcional de sus nódulos. J. Exp. Bot., 24: 259-271. (1973).

41.- Montoya, E., Ocampo, J.A. y Barea, J.M. Interacción entre Azotobacter y fosfobacterias y su establecimiento en la rizosfe

ra y su efecto en la fertilidad del suelo. *Can. J. Microbiol.* Vól. 21:1160-1165 (1975).

42.- Mosher, N.P. Estiércol de aves. Fertilizante excelente. *La Hacienda.* Feb., Vól. 68 (1973).

43.- Navarro, G.L. y Col. Fertilidad de algunos suelos -- de la Sierra Terasca. *Agricultura Técnica de México.* 12:28-33---- (1962).

44.- Okuda, A. y Kobayashi, M. Producción de sustancias mucoides en cultivos mixtos de Rhodopseudomonas capsulatus y Azotobacter vinelandii. *Nature, Lond.* 192:1207-1208. (1961).

45.- Perkins, H.P., Parker, M.B. y Walker, M.E. Estiercol de pollo. Su producción, composición y uso como fertilizante. *Agr. - Exp. Sta. Georgia Bul. N.S.* 123:5-23. (1964).

46.- Pino, J.A. Aprovechamiento de la gallinaza. *Agri-- cultura Técnica en México,* Núm. 6. (1958).

47.- Pinson Rincon Maria de Lourdes. Efecto de la inoculación de Rhizobium japonicum en el rendimiento de soya. Tesis. México D.F. (1978).

48.- Rao, J.V.D.K.K., Patil, R.B. Efecto de la inoculación con Rhizobium y Azotobacter en la nodulación, crecimiento y desarrollo de soya. *Current Science,* 45, 14:523-524.

49.- Razaremamohan, Rao V. Efecto de fertilizantes orgánicos y minerales en Azotobacter en un sembradío de arroz. *Current Science,* Vól. 46:118-119. (1977).

50.- Rovira, A.D. Inoculación microbiológica de las plantas. 1. Establecimiento de bacterias libres fijadoras de N_2 en la rizosfera y su efecto en plantas de maíz, tomate y trigo. ---- *Plant and Soil* 19:304-314. (1963).

51.- Stewart, W.D.P. International Biological Programme of Nitrogen Fixation by free-living micro-organism. Cambridge, University press. London. 3-29 y 101-119 (1976).

52.- Strzelczyk, E. Estudios en la interacción de plantas y microorganismos libres fijadores de nitrógeno. 11. Desarrollo de antagonistas de Azotobacter en la rizosfera de plantas en diferentes etapas de su crecimiento en 2 tipos de suelos. Can.J. - Microbiol. Vól. 7:507-513.(1961).

53.- Sundara, Rao, H., Mann, S.N.B. y Matthur, S.P. Bacterial inoculation experiments with special reference to Azotobacter. Indian J. Agric. Sci. 33:279 (1962).

54.- Teucher, H. y Alder, R. El suelo y su fertilidad. Cía Editorial Continental. México (1965).

55.- Trejo, R. Rubén. Interacción Gallinaza-Nitrógeno -- en el cultivo de maíz de riego en Chapingo, Mexico. Tesis. E.N.A. Departamento de suelos. (1972).

56.- Thompson, L.M. El suelo y su fertilidad. Editorial Reverté. S.A. México.

57.- Manual of Determinative Bacteriology. Eighth edition Ed. Williams y Wilkins. (1974).