

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE QUIMICA**



---

**ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE SUELOS  
FORESTALES DE LA CAÑADA DEL GAVILAN.  
AJUSCO.**

**TESIS PROFESIONAL**

**LUZ MARIA MENA SANTOS  
MA. DE LOURDES RODRIGUEZ BELMONTE**

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
(BIOQUIMICO MICROBIOLOGO)**

**1 9 7 9**



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.

TESIS 1979

AB M.T.

ABQ 224

SCMA \_\_\_\_\_

PROC \_\_\_\_\_

1



JURADO ASIGNADO.

Presidentes:	Prof. ALFREDO ECHEGARAY ALEMAN
Vocal:	Prof. LILIA VIERNA GARCIA
Secretario:	Prof. JORGE SOTO SORIA
1er. Suplente :	Prof. BISERKA SVESHTAROVA PERKACOVA
2ndo. Suplentes:	Prof. BEATRIZ LUNA MILLAN

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de Microbiología Experimental.  
Facultad de Química.

Sustentante: LUZ MARIA MENA SANTOS.  
MARIA DE LOURDES RODRIGUEZ BELMONTE

Asesor del tema : Prof. JORGE SOTO SORIA

" A mis papas José Ignacio y Ana María , por todo el apoyo y cariño que me han dado en el transcurso de mi vida y en especial durante el transcurso de mi carrera ."

" A mis hermanos : José, Julio, Pia y Pilar con todo mi cariño".

" A mi nona Erinna agradeciendote todo el cariño que me has dado, durante toda mi vida " .

" A José Luis , por todo el apoyo y cariño que me has dado durante estos años " .

" A mi abuelita Josefina "

" A mis tios , primos , amigos y compañeros " .

## INDICE

	Pág.
INTRODUCCION .....	1
GENERALIDADES .....	4
MATERIALES Y METODOS .....	114
RESULTADOS .....	171
DISCUSION .....	186
CONCLUSIONES .....	198
BIBLIOGRAFIA .....	199

## I. I N T R O D U C C I O N

El estudio de los recursos forestales en México es cada día más importante ya que debido al abuso de nuestros bosques por la tala inmoderada de éste y la falta de estudios críticos y científicos de estos han hecho que las extensiones forestales disminuyan y así mismo la producción sea baja y de esta forma nuestro país nunca ha sido autosuficiente en esta rama de producción.

El estudio de los suelos forestales en nuestro país puede considerarse que aun se encuentra en sus inicios, en realidad varias zonas boscosas no han sido ni siquiera tocadas por las manos del hombre, por lo que se les considera suelos vírgenes y aun menos todavía han sido sometidos a estudios ecológicos, físicos, químicos y microbiológicos. Por otro lado existen zonas forestales en que la presión demográfica, social y política ha producido disturbios de diferentes intensidades. Dentro -- del Valle de México y en zonas aledañas a la Ciudad de - México, existen parques forestales para recreación popular, los cuales por su función, son sometidos a fuertes-



alteraciones ecológicas, que en determinados casos podrían determinar su pérdida como tales, sobre todo cuando además se les somete a la tala de árboles, pastoreo y agricultura.

Considerando que esto es de gran importancia para la investigación de los suelos forestales, el conocer la población microbiológica presente, así como las condiciones en que se desarrollan y su relación con las características físicas y químicas de estos suelos se propuso el desarrollo de este trabajo, para contribuir un poco más a ampliar los conocimientos que ya se tienen sobre este tema.

Basándonos en lo anterior y aprovechando la cercanía a la ciudad, del Parque Forestal Ajusco, situado al Sur de la Ciudad de México, en la Delegación Contreras del D.F., se escogió una zona dentro de ese parque, conocido como la Cañada del Gavilán, la cual presenta diferentes estados de disturbio, con el objeto de hacer un estudio microbiológico del suelo y tratar de encontrar relaciones entre los microorganismos del suelo, la vegetación, algunas características físicas y químicas del suelo y ciertas condiciones de disturbio.

Al mismo tiempo se hizo un estudio microbiológico

gico de la superficie de las rocas afloradas y de los troncos de los árboles (cuando en el sitio de muestreo, existían éstos), con el objeto de tener una idea de la distribución de estas poblaciones microbiológicas en relación a las del suelo y contribuir en algo al conocimiento de la dinámica de la ecología microbiana en suelos forestales.

Se trató además de que este estudio fuera el primer paso en la obtención del conocimiento de la dinámica microbiana en esta clase de suelos, que rodean a la Ciudad de México y que forman parte de su cinturón verde, para ayudar en el futuro, a obtener una mayor eficiencia en el manejo de estos bosques.

## II. GENERALIDADES

La investigación de los suelos forestales en México se encuentra aún en una etapa inicial, a pesar de los trabajos desarrollados por diferentes instituciones como son la Universidad Autónoma de Chapingo, INIF, UNAM, Instituto Politécnico Nacional, etc. Debido a la diversidad de climas y nichos ecológicos con que cuenta nuestro país, aún falta mucho por conocer sobre suelos de zonas áridas, de clima templado-frío y el del trópico húmedo.

En el aspecto microbiológico y sus interrelaciones con las características químicas, físicas y con la vegetación, se conoce aún menos.

A continuación hacemos un resumen sobre las características de los suelos y los microorganismos que viven en ellos, con especial énfasis en los suelos forestales.

Definición del Suelo.

En este estudio se hace referencia al ecosistema

ma Suelo, y por lo tanto es necesario acercarse lo más - posible a una definición de éste. En vista del gran número de características que identifican a esta porción - de la tierra se han dado varias definiciones; desde el - punto de vista agrológico, el suelo es la Región que man tiene la vida de las plantas del cual éstas obtienen su soporte mecánico y sus nutrimentos. Químicamente el sue lo contiene gran cantidad de substancias orgánicas que - no se encuentran en la misma cantidad en estratos subya- centes. Microbiológicamente es uno de los sitios donde hay mayor interacción biológica y reacciones bioquímicas debido a la vasta población de bacterias, hongos, algas, protozoarios (36).

Y El suelo se puede definir en una forma sencill-  
lla, y que lleva implícita sus principales característi-  
cas; como la capa no consolidada de la corteza terrestre,  
que alberga a la vida terrestre. El origen fundamental-  
de los suelos, es la roca, y se forma al fragmentarse és  
ta, debido a los factores ambientales: aire, agua, tempe  
ratura, acción mecánica y microbiológica.

El suelo está compuesto por varias fases las -  
cuales contienen los cinco componentes principales del -  
suelo: materia orgánica, materia inorgánica, agua, aire,  
y comunidad biótica. Estas fases que componen al suelo-  
son: la fase sólida, la cual contiene material mineral y

orgánico; fase líquida, contiene agua, cationes, aniones y micronutrientes en forma soluble; fase gaseosa que es la atmósfera del suelo y que contiene nitrógeno, oxígeno, CO<sub>2</sub>, y gases raros; y la fase viva formada por microorganismos, fundamentalmente bacterias, hongos, actinomicetos, algas y protozoarios, además de nemátodos, insectos, etc. La cantidad de nutrientes no es la misma en todos los suelos sino que varía de acuerdo a la localidad, a varios factores, principalmente; el origen del suelo, clima, fisiografía, altitud, etc.

La fracción orgánica del suelo es frecuentemente llamada Humus, el cual es producto de las actividades de descomposición y síntesis debidas a la microflora y fauna del suelo. El humus es la reserva predominante de alimento, ya que contiene el carbono y nitrógeno necesarios para el desarrollo microbiano y vegetal. #

Cuando los restos de plantas o animales, caen o son incorporados al suelo, empieza una descomposición a partir de los residuos originales convirtiéndose en -- complejos orgánicos negros o cafés, de modo que no queda rastro del material original.

Se puede decir que el humus se encuentra en -- transformación continua. La descomposición conduce a -- una pérdida del material orgánico, pero al mismo tiempo--

se genera energía y material microbiológico. La pérdida del carbono puede relacionarse con la estructura y -- fertilidad del suelo así como con la actividad biológica.

Se puede decir que la fracción orgánica procede de dos fuentes:

A) Los restos vegetales y animales que caen al suelo, y que son modificados por la microflora y micro-- fauna autóctonas.

B) Los constituyentes de las células microbianas, así como los productos de su metabolismo.

Sólo una pequeña parte de la materia orgánica es soluble en agua. Algunos compuestos, que se encuentran en el humus son: aminoácidos, polisacáridos, etc., - sin embargo no se le puede dar una composición definida a la materia orgánica, debido a que se encuentran substancias de composición desconocida o de estructura química muy complicada. Las variaciones en la constitución - química de la fracción orgánica se deben principalmente a las variaciones de temperatura, precipitación pluvial, material mineral, además de las características propias de la zona (vegetación, fase viva, etc.).

Se considera que el humus es el principal agente que interviene en el desarrollo de los suelos forestales, y el fertilizante natural más importante para los - árboles (32).

## Suelos Forestales

Todo el conjunto de árboles, arbustos y algunas formas de vida, que presentan una relación natural y armónica con el suelo, son los que colectivamente se llaman bosques forestales. El suelo influye en la composición de las plantas del bosque, tanto en su patrón morfológico, como en su velocidad de crecimiento; influye en su grado reproductivo y de resistencia, así como en su estabilidad contra el viento. (36).

Muchos de los suelos de los bosques son producto de la erosión por el medio ambiente que actúa sobre las partículas de arena y arcilla, pero además es muy común que los bosques estén soportados por rocas y crestones, grava amontonada, depósitos de esqueletos en descomposición, depósitos de turba en capas de desechos suspendidos por agua y en áreas permanentemente inundadas, y en zonas pantanosas.

Este tipo de suelos forestales que se alejan un poco de las definiciones generales de estos suelos, van a proveer de nutrimentos a las diversas especies forestales, obteniéndose el óptimo de crecimiento, siempre que se mantenga el equilibrio ecológico.

En general el suelo forestal se puede definir-

como: porción de la superficie terrestre que sirve como medio de sostenimiento de la vegetación forestal y que consiste de materia orgánica e inorgánica que contiene diferentes porciones de aire y agua y es habitada por organismos (36). El suelo forestal presenta características particulares debidas a cierta cantidad de hojarasca, las raíces de los árboles y los organismos específicos - cuya existencia depende de la vegetación forestal. En estos suelos, las raíces pueden ser la fuente principal de materia orgánica, ya que la cantidad de hojarasca es menor, debido a su constante remoción por el viento, y el agua.

En los suelos forestales pueden presentarse diversas situaciones ambientales; hay suelos provenientes de turba y de pantanos, donde la parte mineral constituye una pequeña fracción. Las raíces sumergidas en estos suelos, satisfacen sus necesidades de oxígeno y nutrientes del agua que cubre la tierra; en el otro extremo -- existen suelos con abundancia de roca aflorada (mal país) en el que la parte orgánica se integra con troncos y vegetación muertos formando una fracción pequeña, pero muy activa.

El constituyente vivo más importante del suelo del bosque, es el sistema de raíces de los árboles con las que a veces se asocian ciertas especies de hongos pa



ra formar micorrizas, ayudando a los árboles en la obtención de nutrimentos (32).

#### Génesis de las tierras boscosas.

Se ha mencionado ya que el origen fundamental del suelo es la roca, la cual sufre un desgaste físico - que generalmente viene acompañado de cambios más profundos causados por procesos químicos tales como la hidrólisis, carbonatación, oxidación y reducción. En este desgaste químico, el agua, oxígeno, dióxido de carbono y algunos ácidos reaccionan con los minerales de las rocas - reduciendo éstas a partículas gelatinosas o coloidales.- Los productos finales de esta transformación incluyen -- partículas de cuarzo, ácidos, sales y minerales secundarios.+ El desgaste es el primer paso en la formación del suelo, y le otorga a éste propiedades materiales que más tarde van a influenciar el crecimiento y distribución de los vegetales en los suelos. Durante esta etapa la formación o destrucción de arcillas le da al suelo la propiedad de una determinada facilidad de intercambio de material y lo que influirá en la productividad del suelo.- La composición de los productos de desgaste va a estar - determinada tanto por las condiciones climáticas, como - por la naturaleza de las rocas.

En las regiones boscosas se producen tres etapas de desgaste que se distinguen por las propiedades coloidales del material desgastado y que se llevan a cabo en diferentes condiciones climáticas:

Desintegración física.- Esta etapa predomina en las regiones frías; y en dichas condiciones se inhiben las reacciones químicas; hay un rompimiento de las rocas y se acumulan desechos que no se alteran mineralógicamente.

Sialización.- Esta etapa es característica de las zonas templadas y está confinada a las rocas que en su composición poseen minerales de silicato de aluminio. Hay una deslicación parcial de productos de desgaste y síntesis de minerales secundarios, los cuales tienen propiedades de intercambio, y éstas le dan una fertilidad estable al suelo en la zona templada.

Ferralización.- Se lleva a cabo en las regiones calurosas, tropicales y subtropicales, las cuales presentan buenas condiciones para una hidrólisis intensa: hay una desintegración del núcleo de silicato de aluminio, y por lo tanto, una deslicación, desprendimiento de Fe hidratado y óxidos de aluminio. Estos materiales tienen una baja capacidad de intercambio.

Un grupo de suelos que se ha desarrollado en -

climas húmedos y templados son los suelos Podzólicos que pertenecen a las áreas boscosas. La podzolización tiene mucha importancia en Microbiología debido a que este proceso está asociado con la descomposición de la materia orgánica acumulada en la superficie del suelo. Estos -- suelos de las zonas boscosas tienden a ser ácidos.

Las capas separadas u horizontes del suelo, -- constituyen lo que se llama perfil. Estos horizontes se designan convencionalmente por las letras A, B, C y G, -- con subcripciones numéricas.

Las tierras boscosas constan generalmente de -- cuatro o más capas. (33)

- A<sub>0</sub>.- Este horizonte consta de desechos orgánicos que no han sido incorporados al material mineral, es decir contiene tejidos vegetales.
- A<sub>1</sub>.- Consta de una capa mineral y otra orgánica que se produce por la incorporación del humus amorfo que se ha formado por la actividad microbiológica. Generalmente tiene gran cantidad de nutrimentos.
- A<sub>2</sub>.- Este horizonte está empobrecido en sales y coloides solubles y posee una textura más gruesa que la inferior.
- A<sub>3</sub>.- Es una capa de transición entre la capa empobrecida y la capa B.

- B.- Es el horizonte enriquecido eluvial que contiene sales solubles, precipitados y minerales coagulados, - además de coloides orgánicos. Esta capa puede subdividirse para subrayar diferencias químicas o morfológicas de las zonas.
- C.- Es el substratum que no muestra signos de alteración. Esta capa es pobre en carbono y sales solubles. El substratum mineral es el material principal de la tierra, aunque puede ser de origen geológico diferente al de las capas superficiales de la tierra.
- G.- Es el horizonte gley que se forma por el agua vadosa que contiene hierro ferroso y otros minerales reducidos, la acumulación y formación de costras de Fierro, y óxido de aluminio se pueden considerar formas de gleización.

En algunos suelos se habla de las capas superficiales como estrato S, compuesto de musgos vivos, esta capa tiene importancia en silvicultura. Las capas P o - de pantanos son depósitos anegados de restos de plantas - donde hay una descomposición lenta.

Este sistema de clasificación de los horizontes fué propuesto por Dokuchaev únicamente para los suelos Chernozem, es decir de suelos compuestos por horizontes A, B, C, sin embargo, para las tierras boscosas y - otros suelos, ha llegado a complicarse, ya que en gene--

ral presentan cuatro o más capas.

### PROPIEDADES FÍSICAS DE SUELOS FORESTALES

Las propiedades físicas de suelos forestales - comprenden la profundidad, color, humedad, textura y materia orgánica.

Profundidad del suelo.- La determinación de la profundidad es importante debido a que ejerce propiedades físicas que son decisivas en la Silvicultura. En general, la existencia de zonas forestales está determinada por la profundidad; en un suelo con poca profundidad y en regiones sembradas la baja capacidad de almacenamiento de agua, solo permite el crecimiento de maleza tipo chaparral por lo tanto la profundidad del suelo es un factor de crítica importancia en el crecimiento del bosque.

Los suelos de suficiente profundidad se confinan a zonas donde es necesario resistir una constante erosión climática y son cubiertos por pequeños pedruzcos. En tierras de montañas y cerro la profundidad se reduce por la continua erosión, suplementándose esa reducción por las condiciones físicas, químicas y biológicas; las cuales predeterminan la penetración en el material erosionado y por lo tanto restringen la profundidad del sue

lo, también afecta a los abastecimientos de agua y nutrientes y reduce la estabilidad de los prados forestales contra el viento.

Para los propósitos de la silvicultura, el suelo se puede dividir en tres grupos:

- 1.- Suelos ralos de menos de un pie de profundidad.
- 2.- Suelos de profundidad media entre uno y tres pies de profundidad.
- 3.- Suelos profundos de más de tres pies. (36)

En los suelos forestales la profundidad no es definida ni constante y más bien depende de la habilidad de las especies de árboles y organismos del suelo de penetrar a los estratos geológicos, sin embargo en la mayoría de los casos el examen dentro de los cuatro-cinco pies de profundidad es suficiente para estudiar los hechos esenciales para el crecimiento de los árboles y se considera que por abajo de estos límites el suelo pierde su importancia ecológica. (1)

#### TEXTURA DEL SUELO

La textura de un suelo se refiere a la cantidad o porcentaje en que se pueden encontrar los diferen-

tes tamaños de partículas minerales en el suelo.

En general el suelo incluye dos fracciones ecológicas importantes:

a) Burda            y            b) Fina

La fracción burda comprende a todas las partículas de más de 0.05 mm de diámetro e incluye piedras, - grava y arena.

La fracción fina comprende las partículas de - menos de 0.05 mm de diámetro, y está compuesta de limo o cieno y arcilla.

El material burdo representa el esqueleto del - suelo, su función es más bien de soporte físico para las plantas y tiene menor importancia en cuanto a la nutri-- ción.

La fracción fina es la porción activa del sue- lo, ya que debido a sus propiedades adsorptivas, realiza- completamente las funciones ecológicas, se puede decir - que es el material portador de vida en el suelo.

Se consideran tres categorías de partículas -- del suelo, en base a su diámetro:

arena - de 0.05 a 2mm

limo - de 0.002 a 0.05 mm

arcilla - de un diámetro menor de 0.002 mm

Algunas veces estas categorías se rompen en subdivisiones más finas. Por arriba del mayor diámetro no se considera suelo debido a que no está suficientemente intemperizado.

En la silvicultura se usa la simple clasificación basada en el contenido de partículas de limo y arcilla.

Tipo de suelo	Porcentaje de limo y arcilla de .05 mm de diámetro
arena	-7%
arena gravosa	7-15
arcilla arenosa	16-25
arcilla ligera	26-40
arcilla pesada	más de 40

El método más recomendable para la determinación de textura para las necesidades de la práctica forestal, es el sugerido por Bouyoucos (1927).

Dependiendo de la cantidad de partículas (textura) se tienen distintas estructuras del suelo que varían dependiendo del clima y condiciones en que se encuentren; la estructura será la disposición de las partículas dentro de las capas del suelo formando agregados.



## EFEECTO FISICO DE LA MATERIA ORGANICA DEL SUELO

Entre sus diversas funciones, la materia orgánica ejerce una importante influencia puramente física, suplementando aquella que ejercen los coloides minerales.

La materia orgánica incrementa en forma considerable la capacidad de retención de agua del suelo; el agua es retenida fuertemente por algunos tipos de residuos orgánicos, especialmente la turba.

El material orgánico tiene la habilidad de retener nutrimentos, particularmente bases y amonio. Se considera que la adsorción de cationes por el humus excede a la de partículas de arcilla por algunos por cientos. Sobre la incorporación con suelos minerales, el humus -- ejerce efectos benéficos en la estructura, porosidad, -- permeabilidad y aereación del suelo.

La materia orgánica ejerce una influencia benéfica en las prácticas de reforestación, ya que la cantidad de humus presente favorece la supervivencia y crecimiento de las plantaciones forestales, por lo que se ha hecho una clasificación de la mínima cantidad de materia orgánica requerida para la plantación de una determinada vegetación en una zona de forestación.

## HUMEDAD

— La humedad del suelo puede ser de tres tipos:

- a) Higroscópica.— Que es el agua que está selectivamente adsorbida a las partículas. Esta humedad no es aprovechable por las raíces ni por las plantas. La humedad que queda en el suelo después de dejar secar al aire una muestra, es la humedad higroscópica.
- b) Capilar.— Es el agua que ocupa los capilares o poros del suelo, esta humedad sí es aprovechable por raíces, plantas y microorganismos. También se conoce una humedad de capacidad de campo (la que se retiene en contra de la gravedad).
- c) Humedad de gravedad.— Es la que está en función de la lluvia.

Cuando hay un alto lavado, se solubilizan los nutrimentos y se depositan en los horizontes inferiores haciendo más difícil su aprovechamiento.

La humedad está determinada en parte por la porosidad, y esta característica está estrechamente relacionada con la textura del suelo.

La porosidad se refiere a los espacios formados entre una partícula y otras entre unos agregados y otros. La porosidad se propicia cuando hay una dominancia de arcillas en el suelo, así como cuando hay una ma-

yor cantidad de materia orgánica. La porosidad de los - suelos forestales varía de 30-65%.

Si el suelo tiene una preponderancia de pequeños poros o "microporos" tendrá una alta capacidad de re tención de humedad.

Si el suelo tiene una preponderancia de poros no capilares o poros grandes tendrá una alta aeración y gran capacidad de infiltración. Los poros no capilares - más pequeños son responsables de la retención temporal o "detención" de una fracción considerable de agua gravi tacional.

#### AEREACION

Los espacios porosos están ocupados por agua y aire. Se ha observado que el contenido de aire en el -- suelo influen cia la destrucción o el crecimiento de la - vegetación forestal.

La deficiencia de aire se refleja usualmente - en un desarrollo más bien patológico del sistema de raí - ces.

Los suelos con poco desalojo de agua, son ba-- jos en nutrimentos y los árboles no pueden expresar su - dominancia. Por otra parte el rápido crecimiento de los árboles en suelos donde hay mucha agua también puede ha - cer que decrezca la gravedad específica de los bosques y

puede fomentar los daños por hongos parásitos.

El nivel del agua influencia la composición de los bosques, su grado de crecimiento, su capacidad para la regeneración natural, por medio de sus propiedades fisicoquímicas.

Una pequeña porción de la humedad total del suelo está constituida por vapor de agua, la cual se mueve de regiones de más alta presión hacia las más bajas - de acuerdo a las variaciones de humedad y temperatura. - Al pasar a bajas temperaturas el vapor se condensa y hay una saturación y acumulación de productos de fermentación anaeróbica.

#### PROPIEDADES QUIMICAS DE SUELOS FORESTALES. (36)

El estudio de las propiedades químicas del suelo revela muchas relaciones importantes entre su composición y el crecimiento de las plantas.

Reacción del suelo (pH).- Actualmente el valor de pH expresa la actividad más bien que la concentración de iones  $H^+$  o  $OH^-$ .

El valor del pH ejerce una influencia definitiva sobre las funciones vitales de los organismos, utilización de alimentos, y propiedades de suelos. Este va--

lor es de gran utilidad en el manejo de los suelos, para la producción de cosechas en granjas o bosques.

El efecto del pH en los suelos está modificado por las condiciones del clima, el contenido de coloides, suministro de alimentos y otras condiciones.

En estudios recientes se ha encontrado una relación entre la reacción del suelo y la distribución de la vegetación forestal; es decir que un pH determinado permitirá el óptimo crecimiento de ciertas especies de árboles, y esto es igualmente válido para los vegetales inferiores. Las plantas pueden ser dañadas solamente -- por soluciones de extrema acidez o alcalinidad, en el intervalo de 3 a 9.

Una baja productividad en suelos alcalinos es debida más bien a la deficiencia en nutrimentos que a un efecto directo de los iones  $\text{OH}^-$ .

La fuerte alcalinidad del suelo con un PH igual a 8 se encuentra asociado a la presencia de carbonatos de sodio y otros compuestos tóxicos, y es mucho más determinante para la mejoría de las especies de árboles, que la acidez del suelo. Además una reacción fuertemente alcalina, hace decrecer el aprovechamiento de  $\text{PO}_4$ , Fe, B, Zn y Mg, además de promover un gran desarrollo de microorganismos que compiten con las semillas por los nutrimentos.

La capacidad de neutralización del suelo depende además del material que forma ácidos o bases, del contenido de sustancias que actúen como amortiguadores, como son el humus y arcillas.

Un alto grado de acidez abajo de un pH de 4.7 - causa que las semillas arbóreas pueden disminuir la capacidad de aprovechamiento de N, P, K y otras bases.

En general la virulencia de algunos organismos como los hongos parásitos que atacan a las raíces, semillas y transplantes aumenta en relación directa con el valor de pH, alcanzando su máximo en suelos alcalinos.

Considerando tanto el aspecto nutritivo como el biológico, el pH óptimo de los suelos forestales para la mayor parte de las especies coníferas y caducifolias está entre 5 y 6.5

Una reacción de pH 5 y 7 no ejerce gran influencia en la selección de árboles a plantar, sin embargo un suelo con un pH inferior a 5 indica que puede ser un suelo muy lixiviado con condiciones físicas pobres, que restringe la elección de especies; por otro lado, un suelo con reacción alcalina es desfavorable para el crecimiento de árboles ya que el alto contenido de carbohidratos o sales solubles no es conveniente.

Cuando el suelo presenta una reacción fuertemente ácida, la vegetación que se encuentra allí pertenece -- más bien a plantas de humus primario.

Los suelos con pH cercano a pH neutro, están -- predispuestos a una invasión de vegetación de arbustos y herbáceas.

#### Elementos indispensables del suelo.

De muchos elementos que se han encontrado en -- los tejidos de las plantas, solamente ciertos elementos -- químicos son indispensables para el crecimiento de los árboles.

Se han encontrado que son 10 los elementos in-- dispensables para el crecimiento de las plantas: C, O, H, N, K, Ca, Mg, S y Fe.

Recientemente se sabe que otros elementos llamados menores, son necesarios también para el crecimiento -- de las plantas, entre estos se encuentra: B, Mn, Zn, Cu, -- y Mn, los cuales se necesitan sólo en cantidades muy pe-- queñas. Las plantas van a obtener el C, O, H, las bases -- P, S y los elementos trazas a través del suelo.

Generalmente el N también se obtiene del suelo, pero las legumbres y otras plantas reciben este elemento--

a través del aire por medio de la actividad de bacterias y otros microorganismos simbióticos.

\* Los nutrimentos tienen importantes funciones fisiológicas en el desarrollo de las plantas, forman parte del material que constituye el protoplasma de las células; influyen en la hidratación de los coloides celulares; permeabilidad de membranas, presión osmótica de las células, proveen la sabia celular con sustancias amortiguadoras y frenan el efecto de iones tóxicos y actúan como catalizadores y coenzimas.

#### ECOLOGIA DE SUELOS FORESTALES

Antes de referirse al aspecto microbiológico de los suelos forestales es necesario considerar su ecología; es decir los procesos y condiciones del medio ambiente, - que hacen posible la supervivencia misma.

El medio ambiente no viviente y la comunidad -- biótica que los habita funcionarán juntos como un sistema ecológico o ecosistema. — Uno de los ecosistemas más importantes en el mundo es el bosque, en el cualquier región - boscosa, se puede ver una gran variedad de vegetación que representa las etapas de sucesión y adaptación a las diferentes condiciones del suelo y humedad de éste.



Entre los suelos se pueden encontrar diferencias locales; al pasar de una área a otra, se encuentran variaciones en la profundidad, color, pH y composición química de los horizontes, estas variaciones pueden deberse a la naturaleza del material rocoso, a partir del cual se formó el suelo, factores climáticos, tipo de vegetación, y a la topografía. Las variaciones químicas, físicas y biológicas no necesariamente se presentan en grandes zonas, sino que pueden haber diferencias notables en una área pe--queña.

— Las fuerzas que juegan un papel importante en la dinámica de la población del suelo, y el ambiente, están regidas por las propiedades físicas y químicas del --suelo. (36)

El suelo descansa sobre las capas abióticas de la tierra, las cuales son llamadas el substrato muerto; -este puede influenciar grandemente sobre la capacidad productiva del suelo, este substrato puede almacenar agua y nutrimentos que pueden pasar periódicamente al sistema de raíces por capilaridad o por una elevación del agua subterránea. (2)

— Los factores que en un momento dado pueden limitar el tamaño de la población microbiana en el suelo son: espacio, disponibilidad de nutrimentos, pH, fuente de oxí

geno, humedad, temperatura; el  $\text{CO}_2$  es una determinante -- ecológica importante, ya que no solo afecta a la proliferación autotrófica y altera el pH, sino por su papel potencial de inhibidor diferencial y como un nutrimento esencial de los organismos heterotróficos.

Así como el carácter del habitat influencia a los microorganismos del suelo, estos ejercen efectos bioquímicos sobre su ambiente, entre estos están: a) Incrementan la complejidad química del ecosistema debido a reacciones biosintéticas y formación de humus o bien, pueden disminuir esta complejidad por reacciones de degradación y mineralización de moléculas complejas. b) Oxidando los elementos orgánicos e inorgánicos. c) Reducen los estados de oxidación más altos de los elementos y debido a estas reacciones, solubilizan o precipitan las partículas geoquímicas, pueden cambiar la cantidad total de un elemento en el ecosistema por medio de la fijación o evolución de las formas gaseosas de ciertos elementos. (21)

Un aspecto importante de los suelos forestales es el papel que juegan en el almacenamiento de energía. Una porción de la gran cantidad de energía transmitida por el sol, es atrapada por el follaje sintetizador de la vegetación del bosque, y eventualmente incorporada al suelo como humus. La habilidad del suelo forestal para conservar o incrementar la fuente de materia orgánica es una

característica esencial que lo distingue de los suelos de cultivo.

El suelo también obtiene energía de la descomposición de rocas y minerales, es decir por la erosión de compuestos endodérmicos, aunque esta energía es mucho menor, que la que proviene de radiaciones (1,36).

El suelo forestal, es el productor más rápido de celulosa, requiere un gasto mínimo de energía humana por unidad de área.

Los planes de producción y utilización de la vegetación forestal (1,3) incluyen tres tipos de actividades:

- 1) Crecimiento de semillas de árboles en zonas fértiles regadas artificialmente o viveros.
- 2) Prácticas de reforestación en viveros, tierras abiertas o en el bosque.
- 3) Corte de plantas para reducir la densidad de población y tener una regeneración natural, o la remoción de árboles que han llegado a su madurez.

~~+~~ La textura es una de las propiedades físicas que influyen grandemente en las características del suelo, tiene además un importante significado ecológico (32). Los efectos de la textura en el suelo, se reflejan

tanto en la composición como en la velocidad de crecimiento de la vegetación forestal. Los suelos arcillosos y limosos generalmente mantienen árboles con altos requerimientos de humedad y nutrimentos. En los suelos que -- han albergado una sucesión de especies, el bosque tiende a ajustar las condiciones del suelo a los requerimientos de los árboles que componen ese bosque.

La importancia de la textura del suelo se refleja en la plantación de árboles, en la tala forestal. Los suelos de áreas taladas y quemadas no tienen protección -- contra el viento y el sol, y estos suelos están comunmente agotados en humus y nutrimentos; bajo estas condiciones el contenido de partículas de limo y arcilla tienen -- una influencia decisiva en el crecimiento de semillas o esquejes plantados. (36)

Mientras que el medio ambiente influye en el -- desarrollo del suelo, los organismos serán herramienta -- con la que la naturaleza da las características morfológicas visibles y las propiedades físico-químicas del suelo.

Refiriéndose a suelos, es una ley que a menor tamaño del organismo, mayor será su número, y entromás es pecífica es su función, mayor es su influencia sobre las propiedades del suelo (36). Por otro lado los microorganismos son potencialmente activos en cualquier lugar y lo que selecciona y determina la distribución genérica y do-

minancia de especies, es el carácter del habitat.

La importancia de las características del suelo se refleja en las prácticas de reforestación ya que después de un estancamiento en el crecimiento de las plantas, pronto sigue un crecimiento de árboles indiscriminado.

El propósito de las prácticas de reforestación, no es sólo regenerar los bosques forestales, sino además, que se regeneren libremente, que tengan mayores rendimientos y una producción valiosa, y esto sólo se logra escogiendo las especies de árboles que se adecuen a las características del suelo; en vista de que las reforestaciones se llevan a cabo en grandes áreas, un error en la selección de los sitios de plantación da como resultado grandes pérdidas económicas (1,3).

### INTERCAMBIOS CATIONICO Y ANIONICO

#### Intercambio Catiónico

Conceptos generales.- El intercambio catiónico es una de las propiedades más importantes del suelo. Intercambio catiónico, son los procesos reversibles por los cuales las partículas sólidas del suelo adsorben iones de la fase acuosa, desadsorben al mismo tiempo cantidades equivalentes de otros cationes y establecen un equilibrio

entre ambas fases. (20)

La materia orgánica, las arcillas y los hidróxidos funcionan como "cambiadores".

Como cationes cambiables en el suelo se presentan principalmente  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , e  $\text{H}^+$ . La suma de los cationes  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$  se denominan bases cambiables (valor S) y su porcentaje dentro de la capacidad total de intercambio se llama porcentaje de saturación (valor V). El  $\text{H}^+$ ,  $\text{Al}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  cambiables se agrupan bajo la acidez cambiabile. La suma de la acidez y de las bases cambiables es la capacidad de intercambio catiónico (antiguamente valor T).

La determinación analítica del intercambio catiónico, nos va a facilitar la comprensión del proceso de intercambio catiónico.

Se agita el suelo con una solución amortiguador de sales de bario o amonio, por ejemplo, 0, 2N  $\text{BaCl}_2$  ajustada a pH 8,1 por adición de trietanolamina (método de Mehlich) o de  $\text{NH}_4\text{Ac}$  0.1N, pH 7, 0 (método de Peech) pues el  $\text{Ba}^{2+}$  y el  $\text{NH}_4^+$  no intervienen en la cubierta de iones excepto en condiciones especiales, produciendo la desabsorción de los cationes cambiables. (11)

Gráficando el porcentaje de saturación en fun

ción del pH, se encuentran relaciones directas: al aumentar el pH del suelo se eleva la proporción de  $\text{Al}^{+++}$  y  $\text{Mn}^{++}$  cambiables. Las proporciones de Ca y Al guardan igualmente proporciones establecidas, al aumentar el uno disminuye el otro. El  $\text{Al}^{3+}$  cambiable presenta dependencia del pH, disminuyendo a valores de pH altos.

#### Naturaleza Química del Intercambio Catiónico.

La cantidad de los cationes cambiables en los suelos depende de sus minerales, de su superficie, de las cargas del complejo coloidal y de las características de los iones presentes en la solución del suelo.

Existen diferentes tipos de cargas electrostáticas en el complejo coloidal del suelo. Las cargas negativas denominadas permanentes se originan a través del intercambio isomórfico de  $\text{Al}^{+++}$  y  $\text{Si}^{+++}$  en los tetraedros y octaedros de los minerales arcillosos. A mayor intercambio isomórfico mayor es la carga permanente y la capacidad de cambio. Además, se presentan cargas denominadas variables o dependientes del pH, originadas por el carácter anfótero de algunos grupos funcionales localizados en la superficie de las moléculas de materia orgánica, y a veces en los óxidos y minerales arcillosos. Estos radicales presentan: por encima de su punto isoeléctrico, cargas

negativas, y por debajo, cargas positivas, adsorbiendo ca  
tiones y aniones respectivamente.

Tipos y propiedades de los cambiadores. (13) (11) (20)

Cargas electronegativas de los minerales arcil--  
llosos. Ejemplo: En las ilitas predomina el intercambio-  
de  $\text{Si}^{++++}$  por  $\text{Al}^{+++}$  en los tetraedros de sílice. En la mont  
morillonita predomina el remplazo del  $\text{Al}^{+++}$  por  $\text{Mg}^{++}$  en -  
los octaedros, en la nontronita por  $\text{Fe}^{+++}$ .

Todos los caitones sorbidos en la superficie de  
los minerales arcillosos son cambiables, en cambio los -  
sorbidos en las superficies internas de las arcillas tri-  
laminares son cambiables cuando se expanden por acumula--  
ción de agua entre paquetes.

Cargas electrostáticas de los óxidos e hidróxidos de

$\text{Si}^{++++}$ ,  $\text{Fe}^{+++}$  y  $\text{Al}^{+++}$ .

La participación de estos cambiadores en proce-  
sos de intercambio catiónico es reducido, pues al crista-  
lizarse en el suelo pierden su actividad y debido a su ca  
rácter anfótero solo en valores altos de pH presentan car  
gas negativas.

Los óxidos de  $\text{Al}^{+++}$  y  $\text{Fe}^{+++}$  presentan cargas --  
electronegativas de intercambio catiónico por encima de -



su punto isoeléctrico y cargas electropositivas de intercambio aniónico por debajo del mismo.

### Cargas electrostáticas de la materia orgánica

La capacidad de intercambio de la materia orgánica se debe más que todo a los grupos funcionales carboxílicos ( $-\text{COOH}$ ), los fenólicos ( $-\text{OH}$ ), alcohólicos ( $-\text{OH}$ ) y metooxílicos ( $-\text{OCH}_3$ ), que se encuentran en la periferia de las moléculas de ácidos húmicos. La intensidad de la capacidad de intercambio depende de la cantidad y el grado de acidez de estos grupos. El grado de acidez va a depender del pH y en su carácter anfótero es posible la adsorción de aniones y cationes. La capacidad de cambio de la materia orgánica es comparativamente alta, varía en 350 y 250 meq/100g (11) y se explica por la gran cantidad de grupos periféricos funcionales.

### Importancia de la superficie y la densidad de cargas.

La capacidad de intercambio catiónico depende también de la superficie total o externa como superficie total limitante de las partículas, y la superficie interna que presentan los minerales arcillosos expandibles entre paquetes laminares. La superficie externa aumenta mucho con la disminución de tamaño de las partículas o sea, de las arenas a las arcillas.

La densidad de cargas o sea, la cantidad de carga por unidad de superficie determina, en última instan--cia, la capacidad de cambio de una sustancia. Generalmente se expresa como miliequivalentes por  $\text{cm}^2$ .

#### Propiedades de los cationes en soluciones acuosas.

En los procesos de intercambio catiónico toman parte dos componentes: las partículas coloidales del suelo, o sea la materia orgánica, los hidróxidos y los minerales arcillosos que funcionan como cambiadores y los cationes disueltos en la solución del suelo.

#### Factores que influyen en los procesos de intercambio catiónico. (11) (19) (20)

1.- Composición de la solución externa. De acuerdo a la valencia y al agua de hidratación de los cationes presentes en la solución intermicelar, se producen diferencias con respecto a los cationes adsorbidos en la solución micelar.

Bajo condiciones de baja concentración se ha encontrado experimentalmente que la adsorción de cationes trivalentes resulta mayor que la de los divalentes y monovalentes.

#### 2.- Concentración de la solución intermicelar.

La influencia de la solución intermicelar o externa es -- tal, que al aumentar su concentración crece la cantidad -- de cationes absorbidos y que cuanto más se diluyen, mayor es la proporción de los cationes divalentes absorbidos. -- Es decir a concentraciones menores disminuye la proporción de iones monovalentes en el complejo de cambio y aumenta la de los divalentes.

3.- Selectividad del complejo de cambio.- Se entiende como selectividad de la preferencia que un cambiador puede mostrar por determinados cationes. Esta selectividad se debe a características de los diferentes componentes del complejo de intercambio catiónico: superficie interna o externa, expandibilidad de los paquetes elementales de las arcillas y aumento del espacio interlaminar, dimensiones específicas del espacio interlaminar y fijación de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{K}^+$  (ilita), distribución geométrica de las cargas (densidad), presencia de diferentes cantidades de radicales externos de la materia orgánica.

4.- Reacción del suelo. La reacción del suelo produce un efecto múltiple sobre los procesos de intercambio catiónico. Además de determinar las características de las cargas que se presentan en el complejo coloidal de cambio anfótero, determina la cantidad de cargas denominadas dependientes del pH; a mayor pH aumenta el número de cargas negativas. La participación de las bases (Ca, Mg,

K, Na) es más alta a valores más altos de pH y el Al y el Mn depende también del pH.

### NITROGENO

~~+~~ El  $N_2$  en el suelo forma solo una parte del ciclo total del nitrógeno en la naturaleza. La disponibilidad de este elemento en el suelo es de gran importancia, ya que se utiliza en la síntesis de proteínas, las cuales a su vez están relacionadas con los procesos vitales de las células.

~~+~~ En el suelo, los restos animales y vegetales sufren procesos de transformación; las proteínas se convierten en sus unidades fundamentales: aminoácidos y entonces pasan a amonio y nitratos que son las formas más importantes del origen del nitrógeno y las cuales absorben las plantas para síntesis de proteínas y otros compuestos. (20).

La cantidad de nitrógeno en el suelo está determinada por el clima y la vegetación.

El contenido de nitrógeno total varía de 0.1 a 0.3% en la capa superficial (6 pulgadas aproximadamente) de los suelos forestales; aunque se ha reportado que en suelos muy ricos en materia orgánica puede llegar hasta de 2%. (13) (20).

El clima ejerce una gran influencia en el contenido de nitrógeno en el suelo debido a las condiciones de temperatura y humedad que determinan en gran parte el desarrollo de plantas y microorganismos. Se ha encontrado que existe una relación inversa entre la temperatura y el contenido de nitrógeno; y una relación directa en cuanto a la humedad. La textura también determina el contenido de nitrógeno; en los suelos arcillosos el nitrógeno se encuentra en mayores cantidades que en los suelos arenosos y limosos. (13)

El nitrógeno del suelo también proviene del agua de lluvia, donde se fija el nitrógeno atmosférico, y a través de procesos microbianos de fijación del nitrógeno.

Se ha encontrado que la cantidad de nitrógeno en el suelo disminuye con la profundidad.

En los suelos volcánicos el contenido de nitrógeno es más alto que en otros suelos debido a que las cenizas de las erupciones tienen una acción rejuvenecedora en el suelo, además se forman complejos organominerales que protegen de la mineralización a las sustancias nitrogenadas.

El nitrógeno total del suelo, se compone de nitrógeno orgánico e inorgánico. El nitrógeno orgánico representa entre el 85-95% del nitrógeno total y aunque se-

desconoce en su mayoría la naturaleza química, en general se deriva de proteínas.

Además del material proteínico que compone al nitrógeno orgánico, se encuentran otros compuestos como azúcares aaminados, mucopéptidos, purinas, pirimidinas y -- otros.

El nitrógeno inorgánico se encuentra entre el 5-15% en los suelos, y puede presentarse como óxidos y dióxidos, amoníaco en muy pequeñas cantidades amonio, nitrato y nitrato. (13)

El contenido de nitratos rara vez excede a 25 p.p.m debido a su alta solubilidad, reducción y consumo por las plantas, por otro lado el contenido de amonio puede llegar hasta 70 p.p.m en el humus de suelos forestales, ya que algunos iones de amonio están unidos a coloides minerales y orgánicos, aunque en condiciones de fertilización artificial en suelos alcalinos, las plantas en crecimiento tienen preferencia por las sales de amonio, y el consumo de este compuesto nitrogenado aumenta. (36).

Cuando los restos vegetales y animales se depositan en el suelo, el nitrógeno que se acumula sufre una serie de transformaciones; cuando todo el material que se incorpora al suelo se transforma en sustancias nitrogenadas inorgánicas como  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  se habla de un --

proceso de mineralización del nitrógeno, en este proceso los microorganismos juegan un papel importante. En la mineralización se llevan a cabo varios pasos; la amonificación comprende los procesos por los cuales las sustancias orgánicas se transforman en amonio.

La nitrificación, lleva a la transformación del amonio en nitritos y de éstos a nitratos.

Por otro lado, está la inmovilización del nitrógeno, proceso por el cual el nitrógeno inorgánico es incorporado e inmovilizado temporalmente en los microorganismos.

En la amonificación, la materia orgánica nitrogenada es despolimerizada por enzimas proteolíticas a polipéptidos, y éstos se descomponen en aminoácidos, éstos pueden tomar varios caminos; ser metabolizados por microorganismos (inmovilizados), adsorbidos por arcillas, incorporados al humus, utilizados por las plantas, o mineralizarse hasta llegar a amonio.

En el proceso de mineralización hasta amonio -- participan microorganismos como: Pseudomonas sp, Clostridium sp, Escherichia sp, Streptococcus sp, Bacillus sp, - La amonificación se lleva a cabo por procesos de desaminación, activados por desaminasas produciéndose además de  $\text{NH}_4^+$ , ácidos grasos y compuestos aromáticos, así como pro

cesos de descarboxilación, activados por descarboxilasas--resultando de dichas reacciones, aminas metiladas como pu--trescína y cadaverína. (20)

El amonio que resulta de estas reacciones puede ser absorbido por las plantas, adsorbido por minerales ar--cillosos o material orgánico, inmovilizado por microorga--nismos, lixiviado u oxidado hasta nitratos.

La nitrificación se lleva a cabo cuando el amo--nio que proviene de las transformaciones de la materia or--gánica nitrogenada, es oxidado pasando primero a formar --nitritos y posteriormente nitratos.

La primera reacción la realizan bacterias como: Nitrosomonas sp, Nitrosococcus sp, Nitrospira sp, Nitros--glea sp. La segunda reacción la llevan a cabo bacterias--como: Nitrobacter y Nitrocystis. Durante la formación de nitritos, se producen productos intermedios en el metabo--lismo bacteriano; pero durante la segunda reacción no --existen productos intermedios.

Las condiciones óptimas para la nitrificación --son temperaturas de 25-35°C, pH ligeramente ácido y condi--ciones intermedias de humedad.

La proliferación de Nitrosomonas sp y Nitrobac--ter sp. dependen de la oxidación del nitrógeno y por lo --



tanto es posible estimar el tamaño de la población a partir de la cantidad de nitrato formado, suponiendo que los microorganismos autótrofos son los únicos responsables de esta conversión; algunas veces el tamaño de la población excede al resultado esperado posiblemente debido a la participación de microorganismos heterótrofos o al método -- desarrollado para el cultivo en solución.

Un proceso importante en el ciclo del nitrógeno en el suelo es la desnitrificación la cual consiste en -- una serie de procesos biológicos o no biológicos que conducen a la reducción de nitratos. (2)

La desnitrificación biológica se debe a microorganismos como: Pseudomonas sp, Xanthomonas sp, Achromobacter sp, Bacillus sp. y otros. La desnitrificación llega a un grado máximo en suelos alcalinos o en suelos con una humedad mayor a 60%.

La desnitrificación no biológica resulta de las reacciones químicas entre los componentes nitrogenados inorgánicos del suelo y los que se aplican en fertilizantes. A este proceso se le llama también volatilización del amonio y está influenciado por pH, humedad, temperatura, localización del fertilizante y el tiempo.

Este proceso de desnitrificación produce pérdidas de nitrógeno ( $N_2$ ) del suelo, tanto nitrógeno nativo -

como nitrógeno aplicado en forma de fertilizante.

Las plantas asimilan el nitrógeno en su forma níttrica y amoniacal, sin embargo estas formas son una parte del nitrógeno total y se considera que la mayor reserva de nitrógeno se encuentra en la atmósfera, el cual puede ser útil por medio de la fijación microbiológica y de descargas de nitrógeno en la precipitación pluvial.

Los procesos de fijación del nitrógeno, incluyen la fijación biológica y la no biológica.

La fijación biológica puede ser de tipo simbiótico y asimbiótico.

Los microorganismos simbióticos fijan el nitrógeno en mayor proporción, entre estos organismos se encuentran los pertenecientes al género *Rhizobium* sp, los cuales se desarrollan en simbiosis con plantas leguminosas - las bacterias se localizan en el parénquima radical, donde producen una división celular acelerada, apareciendo así los nódulos radiculares, estos microorganismos son capaces de aportar a la planta hasta el 90% del nitrógeno fijado.

El mecanismo de fijación aún no se conoce completamente, se sabe que las bacterias oxidan primeramente al nitrógeno, forman un producto intermedio, la hidroxilamina la que se reduce a  $\text{NH}_3$  en presencia de una enzima fe

rosa, otra posibilidad es la reacción de la hidroxilamina con ácidos cetónicos del ciclo de Krebs para formar -- aminoácidos.

Los factores que influyen en la fijación del nitrógeno son pH, nutrimentos, temperatura, humedad y aireación.

Otros microorganismos libres, es decir asimbióticos, pueden también fijar el nitrógeno, éstos pueden -- ser bacterias heterotróficas, quimioautotróficas, algas azul-verdes y bacterias fotosintéticas.

Entre las bacterias heterotróficas las más im--portantes son: Beijerinckia sp, Azotobacter sp, Achromo--bacter sp, Clostridium sp, Pseudomonas sp, parece ser que Beijerinckia es específica de los suelos tropicales.

La fijación de nitrógeno no biológico se refiere a la adición de nitrógeno a través de la precipitación, esta forma de fijación es importante en sistemas ecológicos naturales como en los suelos forestales. (13) (20)

En vista de que el nitrógeno forma parte esen--cial de las proteínas, y que éstas son al fin las moléculas responsables del nacimiento y crecimiento de las células, una deficiencia de nitrógeno en el suelo se manifiesta por un crecimiento fallido de las plantas, muerte prematura de las hojas, sistema de raíces mal desarrollado.-

Por otro lado, un exceso de nitrógeno produce grandes anomalías, se presenta adelgazamiento de las paredes celulares, hay una disminución de la resistencia de las plantas a la sequedad, hongos y parásitos. (36)

### CALCIO Y MAGNESIO

#### A. Contenido y Formas del Calcio

El contenido de calcio de los 16 primeros Km de la corteza terrestre es de 3.6% (5.1% de CaO). Las rocas ígneas y sedimentarias contienen entre el 2 y 7% de Ca y las calizas entre el 3 y el 4%. (20)

Los suelos no calcáreos contienen por lo general entre 0.15 y 1.5% de Ca y en promedio tienen alrededor del 1% de este elemento. Los suelos contienen menos calcio que las rocas madres, lo que indica que el Ca generalmente es lavado del suelo y en consecuencia se le encuentra acumulado en forma de  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{CaSO}_4$  en horizontes más profundos, a veces en capas endurecidas en los suelos.

La mayor cantidad de calcio nativo en el suelo se encuentra asociado a feldspatos (anortita, plagioclasa), piroxenos, anfíboles, micas (biotita), y minerales arcillosos.

Además, los suelos contienen otros minerales --

cálcicos. Carbonatos de calcio ( $\text{CaCO}_3$ , calcita) y/o magnesio ( $\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$ , dolomita) nativos se pueden encontrar en suelos jóvenes derivados de calizas.

Sulfato de calcio ( $\text{CaSO}_4$ , anhidrita y yeso -  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) se acumulan con frecuencia en la superficie de los suelos de zonas áridas y semiáridas. Los fosfatos de calcio (apatitas hidroxidadas, fluoradas y carbonatadas) contribuyen ligeramente en el contenido de Ca del suelo.

Según Fried y Shapiro (14) el Ca presente en la solución del suelo varía entre 20 y 1500 mg Ca/l solución de suelo en los suelos de áreas de clima templado.

El calcio predomina generalmente entre las bases cambiables en la "cubierta iónica" del complejo coloidal del suelo. El contenido en Ca cambiante depende del material parental y del grado de evolución de los suelos. A través de la meteorización y del lavado del Ca este elemento disminuye bastante en los suelos.

El estado del Ca en relación a otras bases del suelo se juzga en base a sus relaciones. Una proporción Ca/Mg de 40 se considera adecuada, valores más altos indican una acumulación de Ca mientras que los valores más bajos señalan una predominancia de Mg. La saturación con Ca aumenta con el pH. El Ca cambiante sólo representa -- una fracción del Ca total.

### Ciclo del Calcio en los Suelos. (11) (20)

La dinámica tanto del calcio como del potasio es similar diferenciándose únicamente en el hecho de que el calcio no se "fija". El calcio en la solución del suelo se encuentra en equilibrio con el Ca intercambiable, - la magnitud de ambas formas varía constantemente a través de la absorción de Ca por las plantas y las pérdidas por percolación.

Encontrándose el Ca en cantidades mayores en el complejo de cambio y en la solución del suelo se comprende que los elementos que se pierden por lavado son también mayores que los de Mg y K.

Los materiales de encalado se disuelven lentamente en el suelo y producen efectos de supresión de las diferencias de Ca y Mg y corrección de: 1) los efectos negativos de deficiencia de las bases cambiables; 2) alto poder de fijación del fósforo y molibdeno; 3) pequeña actividad microbiana y consiguiente mineralización restringida; 4) toxicidad de Al, Fe, Mn; y 5) deficiencias de algunos elementos.

### Contenidos y Formas del Magnesio. (13) (20)

El contenido en magnesio total de los suelos no calcáreos varía entre 0.1 y 1% de Mg. Igual que el pota-

sio y el calcio, el magnesio nativo se encuentra en el -- suelo asociado a determinados minerales primarios o secundarios. De manera especial el olivino, la biotita, los piroxenos, los anfíboles, etc. Así mismo en suelos calcáreos se encuentra magnesio nativo en forma de dolomita -- ( $\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$ ), magnesita ( $\text{MgCO}_3$ ) aumentando su contenido en  $\text{MgO}$  total hasta 2 y 3%. Los sulfatos y carbonatos de magnesio son solubles en agua y bajo condiciones normales estas formas de sulfato se disuelven y se translocan a otros perfiles del suelo. El magnesio también se encuentra adsorbido al complejo de intercambio catiónico -- del suelo. Las cantidades y la proporción con respecto a otros elementos es variable entre suelos.

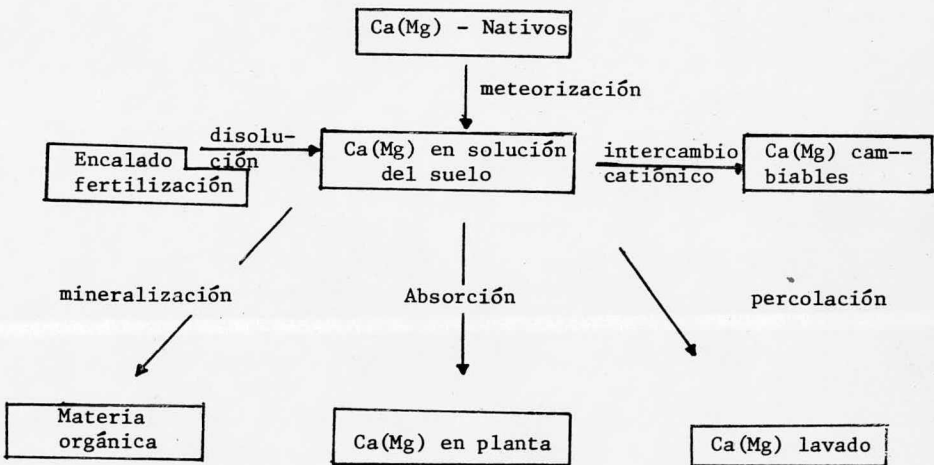
Los suelos desarrollados sobre sedimentos pobres en bases o altamente meteorizados, presentan contenidos menores de Mg. El contenido de Mg en la solución del suelo es generalmente intermedio entre el Ca y K, variando en suelos septentrionales.

#### Ciclo del Magnesio. (20)

Las formas y la dinámica del Mg son muy parecidas a la de otros elementos alcalinos y alcalinotérreos -- como calcio, potasio y sodio. Se encuentran diferenciados solamente las magnitudes de las formas y las cantidades que participan en los diferentes procesos.

La absorción de Mg por las plantas varía entre-10 y 60 Kg/ha y cosecha. Las leguminosas absorben generalmente más Mg que las gramíneas.

Ciclo del Ca y del Mg en los suelos. (20)



Fósforo

El ciclo del fósforo presenta una gran similitud con el ciclo del nitrógeno ya que ambos presentan formas orgánica e inorgánica en el suelo y en las plantas.

La fuente de abastecimiento del fósforo viene del almacenamiento de minerales no intemperizados, tanto-



del suelo, como del subsuelo. El fósforo va a ser llevado al ciclo biológico a través de la absorción por las raíces de las plantas y la microflora del suelo. Esto hace pensar en que los minerales primarios o secundarios están -- constantemente atacados por factores edáficos y microbiológicos dando como resultado un equilibrio dentro del ciclo.

El fósforo es relativamente estable en los suelos. Esta alta estabilidad resulta de una baja solubilidad que a veces causa deficiencia de disponibilidad de P para las plantas.

Como nutriente el fósforo se encuentra en los microorganismos en proporción del 2% en peso seco (14); -- interviene en el contenido de materia orgánica del suelo y su aprovechamiento está estrechamente ligado a la actividad microbiana.

#### Contenido de Fósforo en el Suelo.

El fósforo se encuentra presente en el suelo en cantidades variables, esto se debe a la variabilidad de -- las rocas parentales, al desarrollo de los suelos y a -- otras condiciones edafológicas y ecológicas.

El contenido de P total en los suelos foresta-- les parece estar ligado con el contenido de materia orgá-

nica de los suelos y con su evolución pedológica. Al aumentar el contenido de materia orgánica de los suelos y de los fosfatos orgánicos, se obtiene un contenido mayor de P total. Se ha encontrado que el contenido del P total también depende de la textura de los suelos, ya que cuanto más fina es su textura, mayor es el contenido del P total. De manera más general el contenido de P total disminuye con la profundidad del suelo, lo que es explicable por la disminución de la materia orgánica y de los fosfatos orgánicos.

#### Formas de P en el suelo.

El fósforo se presenta en el suelo casi exclusivamente como ortofosfato y todos los compuestos son derivados del ácido fosfórico. El fósforo se presenta en forma orgánica e inorgánica, y en promedio la participación del P orgánico es igual que la del P inorgánico.

En este caso de las formas inorgánicas, los iones hidrógeno del ácido fosfórico se reemplazan por cationes formando sales. Se encuentran combinando principalmente con Ca, Mg, Fe, Al y minerales arcillosos. En este caso se observa una diferenciación de formas químicas definidas y cristalinas, no bien cristalinas o amorfas, fosfatos absorbidos y presentes en las soluciones del suelo.

En el caso de los orgánicos uno o más hidróge--

nos del ácido fosfórico dan origen a enlaces estéricos y el resto es reemplazado por cationes. En base a su estructura química existen cinco tipos principales de compuestos fosfatados en la materia orgánica: fosfolípidos, ácidos nucleicos, fosfatos metabólicos, fosfoproteínas, y fosfatos del ácido inositol. La fracción principal está constituida por los fosfatos del ácido inositol, hasta en un 50% del fosfato orgánico lo constituye este grupo.

Para caracterizar el P orgánico se utiliza la relación C/N/P, relación muy variable.

La distribución de la fracción fosfatada inorgánica depende del grado de meteorización y desarrollo de los suelos. En los suelos recientes predominan los fosfatos cálcicos, también va a depender de el pH del suelo en reacciones neutras y alcalinas donde predominan los fosfatos de calcio y en los arcillosos, los aluminicos y férricos. Bajo condiciones de inundación se va a propiciar la acumulación de fosfatos ferrosos.

Al examinar la fracción fosfatada de la materia orgánica se han observado sustancias recién incorporadas al suelo, de origen vegetal y microbiano, que afectan el nivel nutritivo del suelo.

✱ Papel de los Microorganismos. - Su papel específico en el suelo en relación con el ciclo del fósforo es-

el siguiente: a) Producción de enzimas tales como nucleasas, las cuales son necesarias para la mineralización del fósforo orgánico. b) Inmovilización del fósforo aprovechable en compuestos orgánicos e inorgánicos presentes en el suelo.

#### Ciclo del P en suelos. (20)

La disolución de los fertilizantes aplicados y de fosfatos nativos inorgánicos y la mineralización directa de los fosfatos orgánicos, son los procesos que llevan a la aparición de iones de fosfato en la solución del suelo de donde la planta se nutre; parte de los iones  $H_2PO_4^-$  absorbidos por la planta son excretados. Una parte de las plantas después de la cosecha se incorpora al suelo donde los fosfatos orgánicos presentes son mineralizados. Al disolverse los fertilizantes en el suelo, presentan una serie de interacciones a través de procesos de adsorción en la superficie de partículas coloidales y de precipitación en forma de fosfatos menos solubles y gran parte del P aplicado es "fijado" en el suelo.

#### Solubilización de fosfatos inorgánicos. (11) (20)

Al solubilizar estos compuestos, los microorganismos lo vuelven aprovechable para las plantas superiores. Esta solubilización se realiza primero por la pro--

ducción de ácidos orgánicos, pero a veces, como es el caso de las bacterias se realiza por ácidos inorgánicos como el sulfúrico y el nítrico.

Las bacterias responsables pertenecen a los géneros: *Micrococcus* sp, *Pseudomonas* sp, *Flavobacterium* sp, *Myrobacterium* sp, *Thiobacillus* sp, *Nitrosomonas* sp. También intervienen hongos: *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Sclerotium* sp.

#### Mineralización de los fosfatos orgánicos.

A partir de los compuestos polimerizados (nucleoproteínas) se forman compuestos más simples (proteínas, ácidos nucleicos), y así se libera ácido fosfórico. Este proceso también es realizado por vía microbiológica, por Bacterias: *Serratia carollera* var. *phosphaticum*; *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum*; *B. mesentericus*; *B. vulgaris*; *B. subtilis*. Levaduras: *Rodentrelaria mucilaginosa*.- Hongos: *Saccharomyces ellipsoideus*, *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. y *Actinomycetes*.

#### Inmovilización del Fósforo

El fósforo aprovechable presente en los suelos puede ser utilizado directamente por microorganismos en competencia con las plantas superiores. A este fenómeno-

se le llama inmovilización porque al acumularse el fósforo en las células microbianas lo retiene en forma no aprovechable para las plantas.

Ciclo del fósforo en los suelos. (20)



- $V_1$  disolución de fertilizantes.
- $V_2$  disolución de fosfatos inorgánicos.
- $V_3$  mineralización de fosfatos orgánicos.
- $V_4$  Adsorción de  $H_2PO_4^-$
- $V_5$  precipitación de fosfatos de Ca, Al, Fe.
- $V_6$  absorción de P por las plantas.
- $V_7$  Excreción de P de las plantas.
- $V_8$  deposición de restos vegetales.
- $V_9$  integraciones entre fosfatos orgánicos e inorgánicos.

POTASIO (11) (20)

Este elemento se concentra en las hojas, brotes y puntas de las raíces.

El potasio permanece en la planta en forma de sal soluble y su función es más bien catalítica; es importante en las reacciones metabólicas como la transformación de carbohidratos y síntesis de proteínas, interviene en la división celular y acelera la asimilación de  $CO_2$ .

El contenido de potasio varía generalmente entre 0.04 y 3%, aunque en suelos alcalinos puede llegar hasta 8%.

La mayor parte del potasio del suelo, se encuentra asociado a silicatos, este es el potasio estructural y no está disponible directamente para la planta, pero participa en los procesos dinámicos.

El potasio es proveído en su mayoría, por feldespatos y micas. Los suelos arenosos formados a partir de rocas pobres en feldespatos y micas serán pobres en potasio, esta pobreza es mayor en condiciones intensas de meteorización como en los suelos podsólicos y latosólicos. Los suelos arcillosos ricos en feldespatos y micas, serán ricos en potasio.

El potasio en solución representa una fracción-

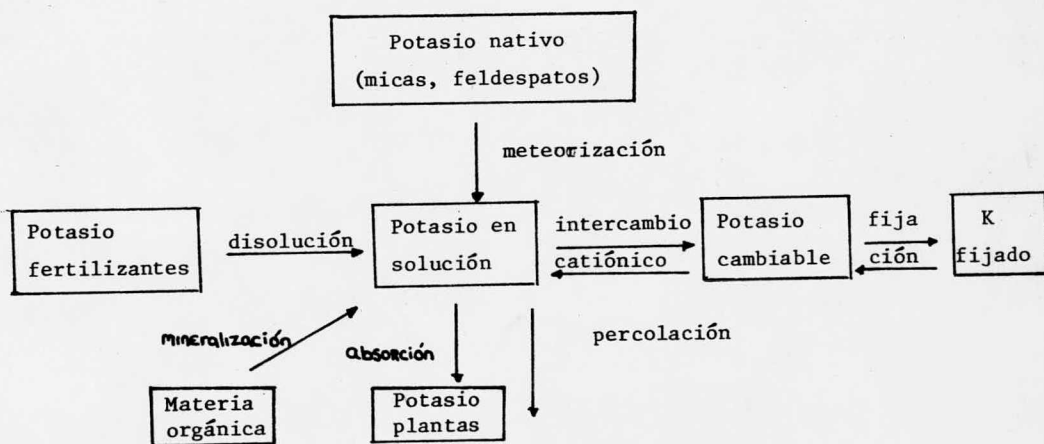




solución. Cuando las plantas absorben el potasio o éste es lavado, se produce su reposición a partir del potasio cambiabile, por lo tanto esta fracción es importante ya que representa una reserva, al mismo tiempo este potasio se protege del lavado a través de la adsorción.

La fijación del potasio, o sea su acumulación en el espacio interlaminar de las arcillas tiene gran importancia en la dinámica de este elemento, el potasio no intercambiabile o fijado es accesible a la planta sólo cuando se agotan las otras formas disponibles de potasio en el suelo. (4)

#### Ciclo del potasio en el suelo: (20)



Una deficiencia de potasio en el suelo impide el crecimiento de raíces e inhibe el desarrollo normal del follaje, las hojas envejecen prematuramente y mueren en las puntas y a lo largo de los bordes.

La adición de fertilizantes de potasio en suelos forestales, aumenta el crecimiento y vigor de los árboles, reduce la pudrición de las raíces de las semillas viejas y puede contrarrestar el efecto dañino del nitrógeno en exceso. (36)

La concentración de potasio en las células bacterianas es de 4.0 - 25.6%. La actividad microbiana influye en el aprovechamiento del potasio en el suelo, y en el desarrollo vegetal. Cuando los microorganismos descomponen la materia orgánica, liberan ácidos que reaccionan con las zeolitas liberando potasio, así los compuestos potásicos son también asimilados por las bacterias, utilizados y almacenados en el material celular, (inmovilización del potasio). Cuando posteriormente se descompone el material celular, el potasio otra vez se vuelve aprovechable estableciéndose un ciclo biológico (movilización del potasio)-(4a).

## MICROBIOLOGIA DE LOS SUELOS FORESTALES

### MICROBIOLOGIA DE LA CELULOSA

La celulosa es un compuesto orgánico, que se encuentra en las plantas superiores siendo probablemente el compuesto orgánico más abundante. Gran parte de la vegetación agregada al suelo es celulosa, y su descomposición -- tiene un significado especial en el ciclo biológico del -- Carbono.

A pesar de que la celulosa es un material inerte, hay muchos microorganismos que son capaces de descomponerla y emplearla como fuente energética, a tal extremo -- que algunas de estas sólo prosperan en medios que contienen como fuente de carbono a la celulosa.

Estructuralmente la celulosa es un carbohidrato compuesto por unidades de glucosa unidas entre sí por medio de uniones beta a los átomos de carbono 1 y 4 de la molécula de glucosa. (2)

La celulosa se encuentra en algas, hongos, y en general en plantas que producen semillas, se encuentra localizada en la pared celular encontrándose como unidades submicroscópicas en forma de barras llamadas micelas, éstas se encuentran en el interior de las microfibrillas en un número de 10 a 20 micelas. En la pared celular la celu

losa se encuentra organizada por unidades, las cuales están separadas por espacios llenados frecuentemente por lignina. La concentración de celulosa en las plantas superiores va a depender del tipo de éstas y de sus años. La celulosa se encuentra abundantemente en la paja, rastrojo, hojas, madera, generalmente la concentración es baja en plantas jóvenes.

Su peso molecular y el número de unidades de -- glucosa por cadena, varía dependiendo de la especie de la planta.

## B. FACTORES QUE RIGEN LA DESCOMPOSICION DE LA CELULOSA

Hay un gran número de factores del medio ambiente que rigen el metabolismo de la celulosa, dentro de estos, podemos nombrar principalmente al nivel de Nitrógeno-disponible, la temperaturá, aeración, humedad, pH, la presencia de otros carbohidratos y la proporción relativa de lignina en el residuo.

A. Nivel de Nitrógeno disponible, a mayor cantidad de nitrógeno no inorgánico se incrementa el rompimiento de celulosa en el suelo, las sales de amonio, nitratos, pueden emplearse como fuente de nitrógeno.

La rapidez de descomposición de la celulosa es proporcional a la cantidad de nitrógeno adicionado, pero --

cuando hay más nitrógeno del necesario, la descomposición de la celulosa no se efectúa. La relación es entonces: -- una parte de nitrógeno inorgánico por cada 35 partes de celulosa, esto sugiere que tres partes de  $N_2$  son incorporadas al protoplasma celular, por cada 100 partes de celulosa descompuesta. (2)

Los abonos animales incrementan la rapidez de descomposición, por su contribución de nitrógeno, al igual que la urea, aminoácidos, peptona, caseína. (33)

En la naturaleza los elementos nutrientes son continuamente reciclados puesto que los microorganismos -- son descompuestos y por lo tanto mucho más del polisacárido es degradado que el que se podría contar del suministro de nitrógeno disponible.

B. La temperatura es otro de los factores que afectan la degradación; a partir de temperaturas cercanas a la congelación, empieza el efecto, hasta un punto al cual se encuentra el máximo para que exista vida, esto es desde:  $T = 5^{\circ}C$ . (2)

A temperaturas moderadas la población predominante es de mesofílicos y los termofílicos predominan a temperaturas superiores de  $45^{\circ}C$  efectuando un rápido metabolismo de la celulosa. Por otra parte el calentamiento incrementa la velocidad de descomposición del substrato ya

que el efecto es directamente sobre la acción enzimática.

La aereación también va a gobernar la composición de la microflora activa, ya que en medios oxigenados predominan las bacterias aeróbicas y en medios en donde disminuye la presión parcial de oxígeno es decir medios anaerobios van a predominar las bacterias anaerobias. La rapidez del metabolismo de la celulosa en un medio anaerobio es significativamente menor si se compara con los medios aereados.

En cuanto a la humedad en medios que tienen un alto nivel de humedad, va a haber una pobre difusión de oxígeno al medio microbiano, por lo tanto el habitat será anaerobio, esto hace que la población de bacterias celulolíticas sea anaerobia, mientras que el número de hongos y Actinomicetos que emplean la celulosa disminuyen. En medios que tienen un nivel moderado de humedad, la microflora favorecida serán bacterias aeróbicas y hongos. (22)

Muchas bacterias celulolíticas van a ser capaces de crecer y liberar enzimas necesarias para la hidrólisis de la celulosa.

A pH ácidos la degradación de la celulosa es afectada por hongos filamentosos. La degradación de la celulosa es realizada más fácilmente a concentraciones bajas de iones de hidrógeno (suelos alcalinos), sin embargo a pH

5 el proceso es rápido. (2)

La presencia de otros carbohidratos como la xilosa favorecen aparentemente el proceso, muchos microorganismos crecen pobremente en medios que tienen celulosa purificada, como única fuente de carbono. La adición de substancias fácilmente metabolizadas por el suelo, aceleran la --descomposición de la celulosa, la población puede incrementar su crecimiento a expensas de algunos nutrimentos carbónicos más aprovechables, y la hidrólisis de la celulosa se puede ver incrementada cuando la microflora se adapta a la celulosa, una vez que el abastecimiento del segundo carbohidrato es limitante.

La lignina es un compuesto que se encuentra presente en las plantas localizada en la pared celular cerca de la celulosa. Se ha observado que en las fracciones de plantas que contienen grandes cantidades de lignina la celulosa es oxidada lentamente en comparación con la lignina.

La lignina no es un compuesto tóxico por sí misma, probablemente es un efecto físico que resulta de la estrecha unión estructural entre ambas. (23)

### C. MICROFLORA CELULOLITICA.

Esta microflora se ha clasificado en aeróbica y anaeróbica, encontrándose la mayor parte dentro del grupo-

de las aerobias. La población que emplea la celulosa incluye a: bacterias mesofílicas aeróbicas y anaeróbicas, -- bacterias termofílicas, hongos filamentosos, Actinomyces, Basidiomycetos y ciertos Protozoarios. (24)

a. Microflora Aeróbica Mesofílica.

Estos microorganismos se encuentran generalmente en suelos forestales, campos. Los principales hongos que intervienen en este proceso son los géneros: *Aspergillus* sp, *Chaetomium* sp, *Curvularia* sp, *Fusarium* sp, *Phoma* sp, *Memnoiella* sp, *Thielavia* sp, *Trichoderma* sp.

Los Basidiomycetos son los responsables de la destrucción de retoños forestales, madera, tejidos maderosos.

Los miembros del género *Sporocytophaga* oxidan la celulosa, dentro de este género se encuentran las siguientes especies: *S. myxococcoides*, *S. ellipsospora*, *S. congregata* (utiliza el almidón). Dentro del género *Cytophaga* se encuentran las especies: *C. hotchisonii*, *C. rubra*, *C. lutea*, *C. ternissima*, *C. aurantiaca*, *C. albogilva*, *C. deprimata*. (2)

Algunas especies de *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Vibrio*, y *Bacillus* emplean celulosa.



En el género de Cellulomonas, las bacterias celulolíticas son: C. biazotea, C. aureogenes, C. galba, C. caesia, C. gilva, C. cenciata, etc.

Winodrasky propone dos géneros: Género Cellvibrío y las especies son: C. echarecus, C. flavescens, C. fluvus, C. vulgaris y el género Cellfacícula con las especies: C. viridis, C. mucosa, C. fusca. (15)

A pesar de que los Actinomycetos crecen por la celulosa y que además contienen un sistema enzimático completo para atacar la celulosa, son mucho más lentos que la mayoría de los hongos y bacterias. También se han encontrado especies de Streptomyces, Micromonospora, Streptoporangium, y Nocardia actuando como bacterias celulolíticas.

Un factor importante que gobierna a esta microflora es el pH, así vemos que a pH 6-7 los Hongos y Vibrios son la población activa, a pH 5.7-6.2 el género Cytophaga, a pH 5.5 los hongos filamentosos, a pH 7.1-7.6 Vibrios celulolíticos. En conclusión a pH ácidos la población predominante son los hongos y a pH mayores de 6 tanto hongos como bacterias. (13)

#### b. Microflora Mesofílica Anaerobia

Los hongos y Actinomycetos son importantes en -

medios anaeróbicos. Actualmente se conocen varios tipos - de degradadores anaeróbicos: mesofílicos formadores de esporas, termofílicos formadores de esporas.

La presencia de un substrato fermentable o la - exclusión de aire estimula esta microflora, no son sensi-- bles a la acidez y se han encontrado a pH de 4.3.

El género más común es *Clostridium* que se en - cuentra en estiércol, lodos de ríos, aguas negras, etc. -- dentro de este género las especies encontradas son: C. ce- llulosolvens, C. wernerii, C. dissolvens. (21)

#### c. Microflora Termofílica

El papel de estos microorganismos en la descom- posición de la celulosa es mínimo si lo comparamos con la- actividad que presentan en las pilas de compuestos. Los - termofílicos que intervienen en esta descomposición pueden ser aerobios o anaerobios, se ha observado que a 61°C en - dos semanas pueden fermentar la tercera parte de la celulo<sup>o</sup> sa del abedul, esto es indicación de un proceso vigoroso.

Se han encontrado dos especies termofílicas que degradan la celulosa: Clostridium thermocellum y Clostri-- dium thermocellulaseum, ambas anaerobias obligadas y de -- temperatura óptima para este proceso de 55-65°C y el pH en la cercanía de la neutralidad. (4)

d. Bioquímica de la Celulosa. (2)

El paso inicial de la degradación de celulosa - es la hidrólisis enzimática del polímero, siendo el complejo enzimático la celulasas. Esta cataliza la conversión de la celulosa insoluble a productos más simples. Esta hidrólisis da lugar a la liberación de mono y disacáridos. Los pasos subsiguientes varían dependiendo de las bacterias, - así, los azúcares simples son metabolizados a  $\text{CO}_2$  por aerobios y a ácidos orgánicos y alcoholes por anaerobios.

La célula microbiana es permeable a la celulosa, entonces el organismo debe excretar enzimas extracelulares para disponer de fuente de carbono. El catalizador actúa hidrolíticamente transformando al material, el cual ya puede penetrar a la membrana celular, una vez dentro, los azúcares simples son oxidados, proporcionando energía. La celulosa purificada cataliza la hidrólisis de: Beta 1-4 - glúcidos incluyendo en este grupo a: celobiosa, celotriosa, celotetraosa, celulosa.

Se ha observado que subsecuentemente hay formación de celobiosa. El mecanismo hidrolítico más probable de ataque de la celulosa es la ruptura al azar. Si el microorganismo produce además celobiosa quiere decir que la glucosa es formada a partir de celobiosa. La celobiasa es una Beta-glucosidasa que hidroliza Beta-glucósidos: - -

Celobiosa -----> 2 Glucosa.

Levinson, Mendels y Reese sugieren dos pasos en la hidrólisis de Celulosa a Celobiosa: 1) reacción catalizada por enzimas  $C_1$ , dando lugar a cadenas lineales compuestas por varias unidades de glucosa y 2) la enzima  $C_x$  hidroliza los derivados de celulosa formados por  $C_1$ , es decir:

Celulosa primitiva pura  $\xrightarrow{C_1}$  Cadenas largas de celulosa  $\xrightarrow{C_x}$  Celobiosa

ambas enzimas son extracelulares, por su actividad  $C_x$  puede llamarse Beta-poliglucosidasa.

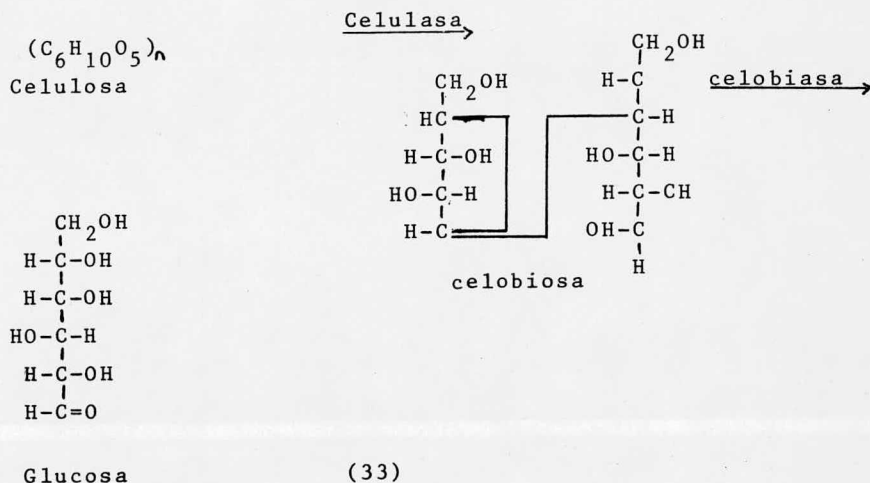
Los microorganismos que pueden elaborar  $C_1$  degradando la celulosa primitiva son los microorganismos celulolíticos verdaderos.

Esta hipótesis de un sistema de celulosa con dos componentes no está todavía aclarado. En conclusión las bacterias aeróbicas convierten generalmente la celulosa en dos productos principales  $CO_2$  y substancia celular.

Los principales productos de la descomposición por Hongos y Actinomycetes son  $CO_2$ , carbón celular.

Los anaerobios mesofílicos y termofílicos son incapaces de metabolizar totalmente un substrato simple, entonces son liberados gran número de compuestos orgánicos como productos finales.

Los principales compuestos que se acumulan en ausencia de oxígeno por estos géneros son:  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ , etanol, ácido acético, fórmico, succínico, láctico.



Los productos finales de esta descomposición dependen de los organismos y las condiciones de fermentación.

GENERO BEIJERINCKIA (33) (6) (17)

El género *Beijerinckia* comprende a las bacterias específicamente aerobias que fijan nitrógeno también conocidas como azotobacter indicum, Starke y Derx. En 1950 -- Derx encuentra este microorganismo en algunos suelos de Bogor y en vista de las diferencias en morfología y en características de cultivo que la distinguen de las otras especies de *Azotobacter*, propone un nuevo nombre genérico

de Beijerinckia. Además de las especies del tipo de B. indica, Derx ha desde entonces añadido a este género una nueva especie con una variante y esta es viz. B. mobile y la variante es B. indica variedad alba. (6)

En contraste con la bacteria del género Azotobacter que fija nitrógeno hay muy poca información en lo que se refiere a sus representantes en el suelo. Después de el aislamiento logrado por Starkey y Derx, los nuevos aislamientos parecen haber sido un accidente exceptuando el trabajo de Tchan, Dobereiner y De Castro. Derx trabajó en Indonesia, Tchan en el Norte de Australia, Dobereiner y De Castro en Río de Janeiro encontrando este género.

Las condiciones que afectan la existencia de -- Beijerinckia en suelo son aparentemente distintas de las conocidas para Azotobacter. La mayoría de los aislamientos de Beijerinckia han sido hechos en suelos ácidos en los cuales no había Azotobacter, la Beijerinckia es mucho más resistente a la acidez que Azotobacter y más aún casi todos los suelos favorables para Beijerinckia provienen de las regiones tropicales, por ello se piensa que existe una limitada distribución geográfica para estos microorganismos.

De acuerdo a la descripción original Beijerinckia comprende al grupo de fijadores de nitrógeno en forma

de bastón, rectos o ligeramente curvos, células jóvenes, móviles, peritricas hay presencia de gránulos refrigerantes redondeados en ambos extremos. No forman endosporas ni quistes. Desarrollan colonias pequeñas, mucosas en sílica gel, de color blanco, lechoso y de bordes lisos (21). En medio líquido no forman velo pero sí una abundante masa viscosa debido a la gran cantidad de moco que forman. Kauffman describió en 1952 otra especie, B. lactiõgenes - que aunque es una especie algo discutida es sin embargo - aceptada por algunos autores, como una forma parecida a - B. indicum. (6) (23)

Una especie aislada por Peterson en 1960, distinta a las anteriores y con propiedades de fijadores de nitrógeno, ha sugerido la idea de crear el tercer género Derrxia, para agrupar a estas nuevas formas. Además de las formas descritas se conocen otras especies de importancia menor y que comprenden un gran número de bacterias del grupo productor de hidrógeno (Athiorhodaceae) y entre las segundas, descritas por Beijerinck hay una cantidad - variada de bacterias, bacilos, Pseudomonas, etc. que se encuentran en el suelo húmido y en la rizosfera, entre ellas se puede citar: B. asterosporus, B. kremieniewski, Azotomonas insólita, Pseudomonas azotogensis, etc.

#### Características fisiológicas

Este grupo utiliza como fuente de carbono, el -

carbono orgánico pero no es capaz de atacar ni la celulosa ni la hemicelulosa. En el suelo los productos catabólicos bacterianos son los más utilizados; alcoholes simples, polialcoholes, sales, ácidos orgánicos, etc. Los elementos más importantes son el fósforo y el calcio, así como el hierro, magnesio, molibdeno, etc. los cuales realizan una función primordial en la fijación del nitrógeno atmosférico, especialmente éste último.

#### Efecto de la Temperatura

La preferencia por las elevadas temperaturas de la región tropical podría causar una limitación en la distribución de las *Beijerinckia* confinándolas a los trópicos. Esta observación se contrapone a las observaciones que indican la existencia de *Beijerinckia* en algunos suelos de Japón, del Norte de la India y Sudafrica y su usual distribución en algunos suelos de montañas tropicales a grandes altitudes en Asia (Java), Africa (Etiopía y Kenia) (6).

Como resultado de ciertos experimentos (5) se ve que el rango de temperatura para el desarrollo de la *Beijerinckia* es mucho más limitado que el rango de *Azotobacter*. Sin embargo hubo alguna variabilidad de clase en el desarrollo óptimo de *Beijerinckia*, la clase aislada de los suelos altos de Etiopía mostró un rango de crecimen-



to óptimo extendido distintamente, hacia las más bajas -- de 20-30°C.

La distribución de Beijerinckia no es debida a una adaptación a las temperaturas mayores de los trópicos. Los experimentos comparativos con Beijerinckia y Azotobacter revelan un intervalo de temperatura para el desarrollo mucho más angosto para las Beijerinckia que para Azotobacter. Todas las clases de Beijerinckia que se estudiaron, y la mayoría de las clases de Azotobacter producen algún desarrollo a 16°C, pero (en gran contraste con Azotobacter) ninguna clase de Beijerinckia se desarrolla a 37°C. Sin embargo aún dentro del rango de temperatura favorable al crecimiento de la Beijerinckia se notó cierta variabilidad de clase, correlacionado con las condiciones locales de temperatura.

Se encuentra que las Beijerinckia son sumamente resistentes a el frío y a las heladas. Suspensiones celulares de la mayoría de las clases investigadas sobreviven a una temperatura de almacenamiento de 25 meses a 4°C y a temperaturas de almacenamiento de 20 meses a -4°C. Por lo tanto ni la baja temperatura ni las heladas pueden ser responsables de la ausencia de esta bacteria en la zona templada.

La Beijerinckia es bastante resistente a la vegetación pero se nota un cierto efecto nocivo para su so-

brevivencia cuando está en un suelo sujeto a la condición de aire seco. Este último efecto es mucho menos notorio en los suelos de arcilla roja ferrogínosa, los cuales con forman su habitat natural. Hay también una disminución notable en el número de células aptas para la vida bajo condiciones de humedad óptima en los suelos europeos. Sin embargo la aplicación de cal a este suelo ácido con lo -- cual se incrementa el valor de pH, tiene un efecto muy fa vorable en el desarrollo de la Beijerinckia en estos suelos. Bajo condiciones naturales el alto porcentaje de -- suelos favorables a la Beijerinckia, fué encontrado en el intervalo de pH entre pH 5.5-5.9 (74.2%) y de 5 a 5.4 -- (64.3%). (6,21)

Ningún suelo con un pH menor de 4 o mayor de -- 7.4 contiene Beijerinckia en vista de que los últimos sue los contienen sin ninguna excepción, Azotobacter, se su-- giere que la ausencia de Beijerinckia puede deberse a la competencia con las Azotobacter y no a las condiciones al calinas por ellas mismas. Esta visión está apoyada por -- la observación de que la mayoría de las clases de Beije-- rinckia alcanzan, su óptima fijación de nitrógeno a un -- pH=4 y no presentan sino pequeñas reducciones en la fija-- ción de nitrógeno en un medio muy alcalino (pH entre 9 y 10) y esto sin importar si las Beijerinckia fueron aisla-- das de suelos ácidos o alcalinos.

Unicamente en una clase se observó una reducción de 50% de su desarrollo en un pH de 9 (la B. mobil cepa - 1). Durante el desarrollo de *Beijerinckia* en medios libres de nitrógeno, la acidez del medio cambia; a una acidez muy alta el pH del medio aumenta mientras que en un medio más alcalino se produce ácido. La producción de ácido se incrementa a mayores valores de pH. A un valor intermedio de pH no se produce ni ácido ni base a pesar de que halla un buen desarrollo (usualmente a pH entre 3- y 4). Los ácidos que se producen son el ácido acético y un ácido no volátil no identificado pero que está presente en cantidades muy pequeñas.

Después del pH, el tipo de suelo parece ser de gran importancia sobre la distribución de las *Beijerinckia*. El 62% de los suelos tropicales involucrados en este estudio pertenecieron al tipo de suelo de arcilla roja ferrogínosa. De los suelos de arcilla roja ferrogínosa - el 63% fueron favorables para la *Beijerinckia* y únicamente un 23% de los otros tipos de suelo. Esta observación explica parcialmente la preferente distribución en los trópicos de este organismo puesto que la formación laterítica se encuentra únicamente en los trópicos. Es posible que la *Beijerinckia* está adaptada a la composición química característica de los suelos de tierra de arcilla roja ferrogínosa. (6)

Género AZOTOBACTER

Las bacterias pertenecientes al género Azotobacter, poseen la habilidad de fijar el Nitrógeno atmosférico del suelo, para sintetizar materiales complejos orgánicos. De ahí la importancia de las bacterias fijadoras de nitrógeno, pues no solo utilizan el nitrógeno que existe normalmente en la atmósfera sino también el que procede de algunas transformaciones químicas, por ejemplo la desnitrificación.

Los Azotobacter son bastoncillos estrictamente aerobios, no esporóforos, grandes y móviles, que con frecuencia se presentan en forma hinchada, ovalada o parecida a una levadura. La forma ovalada puede deberse principalmente a una acumulación de glóbulos grandes de grasa dentro de una célula madura. Estos microorganismos de vida libre emplean como fuente de energía carbohidratos que toman del suelo, pero toman el nitrógeno directamente del aire. El nitrógeno se combina dentro de su protoplasma celular y luego se libera en forma de  $\text{NO}_3$  u otros compuestos por otros microorganismos del suelo.

Los Azotobacter son muy sensibles a la acidez, pues a un pH menor que 6 puede ya no haber desarrollo, se ven favorecidos por el fósforo pues éste aparece en su constitución en una proporción de 5%. La energía neces-

ria para fijar nitrógeno la pueden obtener de la oxidación de Carbohidratos, alcoholes superiores, dextrina y ácidos orgánicos.

Clasificación:

I. Bacterias Heterotróficas.

Familia	Género	Especie
Azotobacteriaceae	<u>Azotobacter</u>	<u>A. chroococcum</u> ,
		<u>A. vinelandi</u>
		<u>A. beijerinckia</u>
	<u>Azotococcus</u>	<u>A. agilis</u>

El primer microorganismo aerobio, fijador libre de nitrógeno que se aisló fué A. Chroococcum obtenido por Beijerinck en un cultivo puro, esta bacteria se encuentra en todos los suelos y es aerobio estricto, móvil por un - flagelo polar, capaz de fijar N atmosférico, cuando crece en soluciones que contienen carbohidratos y escaso nitrógeno combinado.

Mide de 3 a 12 micras, aparece en parejas, y en ocasiones en forma de cadena, generalmente tiene aspecto de bastón y más comúnmente en forma de cocos. Sus colonias en gelosa son al principio incoloras, posteriormente amarillentas y por último negruzcas, su temperatura óptima es de 25-28°C en condiciones aeróbicas.



Fija el nitrógeno con desprendimiento de  $\text{CO}_2$  y utilización de glucosa, maltosa, dextrina, almidón y otras sustancias complejas. (2,3)

Análisis químico.- Contiene proteínas, hemicelulosa, lignina, y materiales similares, cenizas. La fracción nitrogenada contiene cantidades inferiores al 1% de nitrógeno básico, amídico, húmico.

En medios sólidos su crecimiento generalmente se acompaña por Alcalígenes radiobacter.

Posteriormente fué aislada A. agile, el cual mide de 4-6 micras, puede ser móvil o inmóvil. Crece en medios sin compuestos nitrogenados orgánicos a una temperatura de 25-28°C. No licua la gelatina, nunca produce pigmentos negros, por lo cual se diferencia con el A. chroococcum, y la fijación de nitrógeno es más activa y hay también más desprendimiento de  $\text{CO}_2$ , sus colonias son blancas y transparentes. (3,24)

Mediante experimentos de laboratorio se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- a.- Azotobacter tiene un coeficiente respiratorio muy alto, esto explica la facultad de fijación de nitrógeno.
- b.- La eficiencia de la fijación de nitrógeno -

aumenta cuando disminuye la presión de oxígeno.

c.- El óptimo de respiración se encuentra en un pH = 7-7.5 y a pH menor que 6 no hay fijación de nitrógeno.

d.- El Ca es esencial para fijar nitrógeno y se puede substituir por estroncio.

e.- El Mo y el V son benéficos para el proceso.

f.- El humus aumenta el crecimiento de Azotobacter en N<sub>2</sub> libre.

#### MECANISMOS GENERALES DE LA FIJACION BIOLOGICA DE NITROGENO

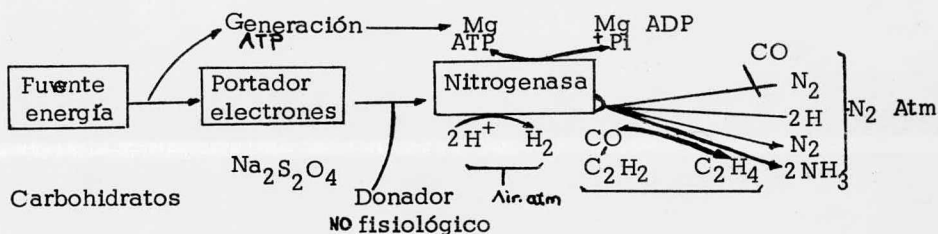
+ En la fijación biológica de nitrógeno inicialmente el triple enlace de la molécula de nitrógeno es roto y después tres átomos de hidrógeno son transferidos y fijados al átomo de nitrógeno para posteriormente incorporarse a las proteínas de las plantas. La transferencia de átomos de hidrógeno es a partir de carbohidratos tales como la glucosa, siendo el sitio de transferencia la enzima nitrogenasa, la cual se puede considerar la molécula clave en la fijación del nitrógeno.

Dicha enzima es una proteína compleja con dos componentes principales sensibles al oxígeno. El componente Mo-Fe formado por cuatro unidades con peso molecular 200,000 a 270,000 daltones y la azoferrodoxina. Es-

tas dos proteínas junto con  $Mg^{++}$ , ATP y un donador de electrones son esenciales para la actividad de nitrogenasa(8).

La nitrogenasa, ha sido aislada, purificada y fraccionada en la mayor parte de los microorganismos fijadores de nitrógeno que al caracterizarlos se ha observado la existencia de un solo tipo de nitrogenasa.

El sistema de nitrogenasa se encuentra relacionado con procesos metabólicos que proveen de energía a la enzima .(19)



Aunque el mecanismo para la fijación de nitrógeno aún no se comprende en su totalidad. (9)

El control de la fijación de nitrógeno biológica, se logra aparentemente por medio de la regulación de los genes denominados *nif*, que codifican la nitrogenasa.



La molécula reguladora es la enzima glutamino sintetasa.- El amoníaco que se forma por fijación de nitrógeno, se -- combina con el glutamato por medio de una reacción catalizada por la glutamino sintetasa, formándose el aminoácido glutamina. El mecanismo para el control de la fijación - del nitrógeno aún no se comprende en su totalidad. (10)

#### PROCESO DE AMONIFICACION

La amonificación, es el proceso mediante el -- cual los residuos orgánicos protéicos del suelo son des-- compuestos debido a la actividad de los gérmenes proteolíticos, dando como resultado la liberación de amoníaco.

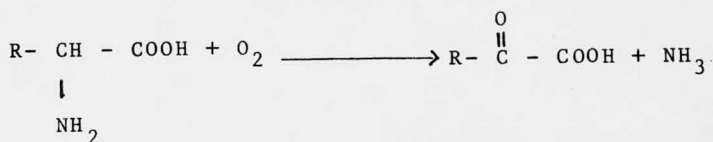
Este proceso ha sido tomado como índice de la - calidad del suelo en lo que se refiere a su fertilidad, - para ello se toma en consideración la cantidad de amoníaco producido y la rapidez con que se efectuó la amonificación.

#### Descomposición de las Proteínas. (33,2)

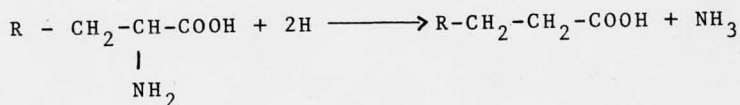
f El primer paso que se efectúa en este proceso - es la hidrólisis de las proteínas con la liberación de -- los aminoácidos que las constituyen. Los hongos, bacte-- rias y actinomicetes así como otros organismos presentan- la capacidad proteolítica necesaria. Una vez liberados -

estos aminoácidos son asimilados o atacados a su vez, este ataque puede ser de la siguiente forma:

1). Pueden sufrir una desaminación oxidativa, - proceso que puede ser realizado por muchas bacterias y -- hongos produciendo un ceto-ácido y liberando amoníaco:



2). Los organismos anaerobios o anaerobios facultativos, pueden realizar una descomposición reductiva - produciendo un ácido graso:



Puede efectuarse también una descarboxilación - del aminoácido produciéndose una amina y  $\text{CO}_2$ -

Las bacterias proteolíticas pueden dividirse en aerobias y anaerobias dentro del primer grupo podemos men cionar:

esporuladas	Bacillus subtilis
	Bacillus mesenteroides

*Pseudomonas fluorescens.*

*Proteus vulgaris*

Diversas especies de *Sarcina*, *E. coli*, *Aerobacter*, aerogenes, *Gaffkya tetrágena*.

No

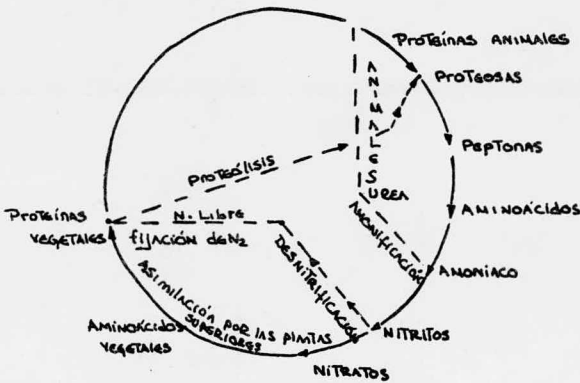
Esporuladas

Especies de *Mycobacterium* y *Diplococcus*.

Formas diversas del orden de *Mycobacteria*les.

Entre las bacterias anaerobias se encuentra fundamentalmente algunas especies del género *Clostridium* sp.

Se sabe que a partir del proceso de descomposición de las proteínas se van a obtener sustancias más simples como son las peptonas, polipéptidos, aminoácidos y que estos microorganismos son los que están relacionados con esta clase de transformación, de tal manera que los prótidos insolubles que no tienen valor desde el punto de vista nutritivo para las plantas superiores, se vuelven solubles y son entonces fácilmente asimilables por éstas (33). La descomposición posterior de las proteínas va a liberar amoníaco, el cual tiene un papel importante en la mineralización de sustancias orgánicas de tal forma que el ciclo del N se presenta así: (3)



En estas transformaciones también van a tomar parte levaduras y protozoarios. El proceso de la amonificación que en resumen es la transformación de N protéico en amoníaco se realiza en una forma constante.

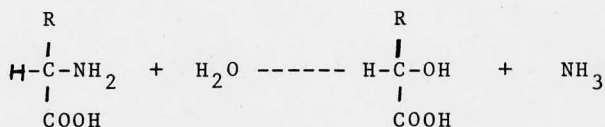
a. Por oxidación completa efectuada por bacterias aerobias proteolíticas y hongos, ej. *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. mesenteroides*, *B. cereus*, *B. megatherium*, *Penicillium sp.*, etc. produciendo  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , etc.

b. Por oxidación incompleta efectuada por bacterias proteolíticas aerobias facultativas y hongos como los géneros *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Escherichia sp.*, y *Penicillium sp.*, produciendo aminoácidos, amins y amoníaco.

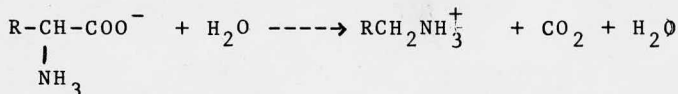
La descomposición típica es determinada fundamentalmente por organismos anaerobios, principalmente por

el género *Clostridium* sp, produciendo: ácido butírico, -- amoniaco,  $H_2$ ,  $CO_2$  y compuestos malolientes como son  $H_2S$ , -- indol, mercaptanos, etc.

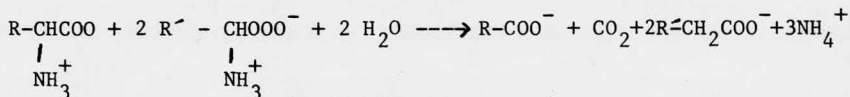
Las fracciones activas en estas transformacio-- nes son las enzimas que producen las bacterias. En gene-- ral, los aminoácidos pueden hidrolizarse dando como resul-- tado un hidroácido y amoniaco.



Por otra parte el ataque bacteriano puede prese-- sentarse sobre los carboxilos mediante una descarboxilasa:



*Clostridium sporogenes* puede atacar simultánea-- mente dos aminoácidos, uno de los cuales va a ser donador de H y el otro aceptor de H, es decir, uno se oxida y -- otro se reduce. En este caso la reacción:



Como se ha observado las transformaciones de -- los aminoácidos comprenden diferentes reacciones: hidrólisis, desaminación, oxidación y descarboxilación. En suma toda la materia orgánica puede amonificarse, incluyendo a materiales como la quitina, alcaloides, toxinas, etc., y todo esto es importante en la explicación del ciclo del nitrógeno en la naturaleza.

Otras formas de materia orgánica, pueden también ser utilizados por estos organismos, resultando diversos materiales debido a la actividad enzimática de dichas bacterias.

#### Descomposición de materia vegetal por los microorganismos

En forma experimental Kononova realiza una serie de trabajos de laboratorio, referidos a la descomposición de la materia orgánica vegetal por microorganismos bajo condiciones controladas. (2) (3)

En estas investigaciones, él observa que la microflora actúa de la siguiente manera:

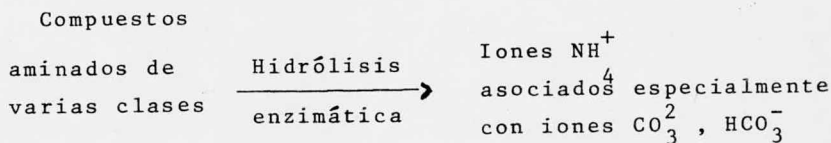
Hongos y bacterias no esporuladas	----->	Bacterias esporuladas	----->	Myxobacterias celulolíticas	---->
--------------------------------------	--------	--------------------------	--------	--------------------------------	-------

actinomycetes.

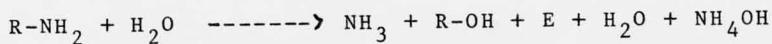
Los hongos y las bacterias van a atacar las --  
 substancias orgánicas fácilmente disponibles, como son --  
 los aminoácidos, carbohidratos, proteínas simples, poste-  
 riormente las Myxobacterias celulolíticas empiezan a pre-  
 dominar debido a que requieren del nitrógeno y finalmente  
 los Actinomycetes se convierten en el grupo dominante una  
 vez que ha terminado el proceso de humificación.

Por otra parte Kononova dice que cualquier subs-  
 tancia vegetal que sufre transformaciones complejas en el  
 suelo, puede aportar componentes para la formación de las  
 moléculas húmicas.

El proceso de Amonificación que antecede al de  
 la Nitrificación se puede esquematizar de la siguiente --  
 forma:



y haciendo una representación más específica de la amoni-  
 ficación,



El  $\text{NH}_3$  solo se forma parcialmente, pues en gene-  
 ral se produce en forma de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{OH}^-$ .

De acuerdo a la reacción anterior, cuando los microorganismos adquieren energía mediante este proceso (amonificación), desprenden cantidades enormes de  $\text{CO}_2$ , dejando una serie de productos secundarios y principalmente los compuestos de amonio. Estos compuestos de amonio que son los que interesan, están en forma de carbonatos y bicarbonato debido a la abundancia y actividad del  $\text{CO}_2$ .

Entre los factores más importantes que pueden presentar influencia sobre este proceso podemos mencionar: a) Aeración debido a que la mayoría de los microorganismos que intervienen en este proceso son aerobios, va a ser necesario la presencia de oxígeno, así como un buen sistema de aereación, para lo cual es importante considerar el tamaño de las partículas. b) Humedad, la cual está ligada a la aeración, es necesaria la presencia de niveles adecuados de humedad, permitiendo una buena circulación de oxígeno hasta llegar a donde se encuentran las bacterias y en el caso de bacterias anaerobias se requiere de un ambiente carente de oxígeno y una elevada humedad. En cuanto al pH, el pH óptimo para la amonificación es  $\text{pH}=7$ , también la relación C/N es muy importante ya que a relaciones más bajas de 15/1 la amonificación se ve incrementada y si es lo contrario no va a haber suficiente nitrógeno para mineralizar.



## BACTERIAS NITRIFICANTES

La Nitrificación ha sido definida como el proceso biológico a partir del cual se van a obtener Nitritos y Nitratos, utilizándose como substrato inicial, compuestos que tienen Nitrógeno reducido. Este substrato generalmente es el Amonio, el cual es la forma más reducida del nitrógeno y el producto que se obtiene finalmente es el Nitrato.

Por otra parte los compuestos con Nitrógeno orgánico no pueden ser directamente convertidos a nitratos, entonces el amonio será generalmente liberado como consecuencia de un proceso de mineralización.

En base a la capacidad que tienen los microorganismos nitrificantes de formar Nitratos, siendo este compuesto la mayor fuente de nitrógeno asimilada por las plantas superiores se han realizado estudios más profundos.

L. Pasteur, fué el primer investigador que sugiere al proceso de Nitrificación de naturaleza microbiana, posteriormente Scholesing y Muntz comprobaron esta aseveración, observando que al destruir a las bacterias, el suelo perdía su facultad de oxidar al amonio, restituyéndose dicha facultad cuando se agrega una pequeña cantidad de suelo fresco. Más tarde Winogradsky observa que bajo-

determinadas condiciones, es posible distinguir dos grupos bacterianos distintos, los cuales están involucrados en la Nitrificación. (3) (2)

Por ello se ha dividido la Nitrificación así:

1.- Consiste en la oxidación del Amonio a Nitrito, a este paso se le conoce con el nombre de Nitrosación y es llevado a cabo por el género *Nitrosomonas* sp.

2.- Consiste en la oxidación del Nitrito al Nitrato, este paso recibe el nombre de Nitratación y es efectuado por el género *Nitrobacter* sp.

Fué precisamente Winogradsky quien logra aislar a estos dos grupos de bacterias, obteniendo sus cultivos puros, para lo cual emplea medios inorgánicos carentes de materia orgánica.

La actividad de las bacterias que oxidan Nitritos a Nitratos se inicia hasta el momento en que el amonio ha sido totalmente oxidado, ya que este compuesto se ha observado que es tóxico para las bacterias que continúan con la oxidación.

Los medios de cultivo de las bacterias Nitrificantes más comunmente empleados son: El medio de Winogradsky (para los que oxidan amonio); el medio de Omeliansky (para los que oxidan los nitritos a nitratos) y el medio-

de Beijerinck.

## B. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA NITRIFICACION (2)

Este proceso presenta un marcado grado de sensibilidad hacia las influencias externas, esto se debe en gran parte a la gran similitud fisiológica de ambas especies.

Entre los factores que influyen en este proceso se encuentra la acidez, ya que en condiciones ácidas, la Nitrificación es lenta, aún en presencia de un sustrato adecuado, ya que las bacterias están ausentes cuando hay gran acidez. Los suelos alcalinos o neutros tienen grandes poblaciones de bacterias nitrificantes.

Los valores de pH óptimos se encuentran generalmente en 7. En valores de pH = 5 se puede considerar nulo, aunque ocasionalmente en pH de 4 se han encontrado los nitratos, esto se debe posiblemente a cepas ácido-adaptadas, muchas veces el pH óptimo va a depender de la localidad de la cual son originarias las bacterias.

La aeración es un factor especial para todas las especies, en aquellos suelos en los cuales la aeración es inadecuada, habrá poca oxidación de amonio y en donde haya ausencia de oxígeno, no se presenta la reacción, por lo tanto al aumentar la presión parcial de oxí-

geno va a aumentar la Nitrificación y viceversa.

La humedad en el ambiente microbiano es también de suma importancia, ya que al haber una gran cantidad de agua la difusión de oxígeno va a disminuir, la aeración - disminuye y el proceso puede hasta anularse totalmente. - El rango óptimo de humedad varía en base al tipo de suelo, pero generalmente los Nitratos se producen rápidamente en suelos de 1:1.5-2:3 de capacidad de retención de agua. (2)

Se ha observado que a temperaturas de 4-5°C el rango es muy bajo, hay evidencias que a temperaturas por debajo de la congelación la formación de nitratos es lenta. La temperatura óptima generalmente es de 30-35°C, es este rango depende de las características fisiológicas bacterianas.

En algunas ocasiones la presencia de materia orgánica en los cultivos es perjudicial. También el tipo de siembra puede afectar este proceso, se ha demostrado - que en los alfalfares se forman nitratos más vigorosamente. (2)

### C. MICROBIOLOGIA DE LAS BACTERIAS NITRIFICANTES

Género Nitrosomonas.- Realizan la oxidación de amonio a nitrito. Se desarrollan en medios artificiales, sin materia orgánica o pequeñas cantidades de ésta.

Dentro del género de las Nitrosomonas se encuentran las siguientes especies: a) Bacterias móviles.- Nitrosomonas europea, N. manocella, N. olicarbogenes. - -  
b) Bacterias inmóviles.- N. groningensia.

Por otro lado tenemos a los organismos: Gram -- (-): a) Bacterias inmóviles- Nitrobacter winogradsky, Nitrobacter flavum, Nitrobacter agilis, Nitrobacter opacum, Nitrobacter res resen album, Nitrobacter punctatum, (35)- siendo estos tres últimos del grupo de las bacterias Gram (+) inmóviles.

Género Nitrosococcus.- No se encuentran fácilmente y por su habilidad de formar zooglea se distinguen las especies: Nitrosocystis, Nitrosogla y Nitrocystis.

Las bacterias Nitrificantes autótroficas son todas obligadas en su acción sobre material orgánico como fuente de energía.

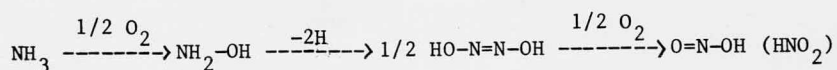
#### D. BIOQUIMICA DE LA NITRIFICACION (3), (21)

En el primer paso realizado por las Nitrosomonas, el nitrógeno es oxidado desde -3 a +3 del  $\text{HNO}_2$ , por remoción de 6 electrones.

Se ha observado que en determinadas condiciones, la hidroxilamina, puede ser oxidada tan rápidamente como-

el amonio. Las bacterias causan la desaparición enzimática de la hidroxilamina pero la cantidad de  $\text{NO}_2^-$  es mucho menor en relación a la  $\text{NH}_2\text{OH}$  que desaparece. Se propone que la  $\text{NH}_2\text{OH}$  es el primer intermediario en la reacción de Nitrosomonas por los siguientes puntos: 1) La  $\text{NH}_2\text{OH}$  es rápida y cuantitativamente oxidada a  $\text{NO}_2^-$ . 2) Es uno de los substratos oxidados, lo cual demuestra que las bacterias tienen las enzimas necesarias, 3) Las enzimas son formadas en medios que contienen sales de amonio. 4) Demostración de la acumulación de  $\text{NH}_2\text{OH}$  en la célula mediante el uso de inhibidores.

Entonces el mecanismo propuesto es el siguiente:

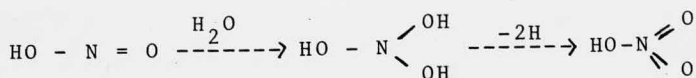


Este mecanismo está totalmente aclarado.

El hiponitrito es inestable a pH 7, lo cual dificulta demostrar que es un intermediario.

En el mecanismo Nitrobacter sp. cambia del estado de oxidación de N + 3 a N + 5, o sea se oxida en dos electrones por molécula.

La reacción de obtención de energía llamada deshidrogenación puede caracterizar la formación de nitros:



Esta oxidación se ve incrementada por la presencia de Molibdeno. Esto puede hacernos pensar en el hecho de el sistema de activación del  $\text{NO}_2^-$  contiene complejos-Mb-Enzima.

### C. NITRIFICACION HETEROTROFA (2) (23)

Se ha observado que por medio de un enriquecimiento adecuado es posible que las bacterias heterótrofas oxiden compuestos nitrogenados orgánicos, para poder corroborar ésto es necesario aislar y probar separadamente cada microorganismo heterótrofo sobre el cual se sospeche la capacidad de realizar la nitrificación.

Cutler y Mukerji fueron los primeros en demostrar y aislar las bacterias que producían pequeñas cantidades de  $\text{NO}_2^-$  a partir de sales de amonio, en medios con baja concentración de azúcar (20).

Algunas bacterias, Hongos, Actinomicetos han sido involucrados en el proceso heterotrófico de la nitrificación. Los niveles altos de azúcar o carbohidratos pueden aparentemente suprimir la acumulación del  $\text{NO}_2^-$  por heterótrofos.

Generalmente las bacterias toman amonio y lo oxidan a nitritos pero después la oxidación no continúa y el nitrito desaparece por asimilación o demanda de nitró-

geno, sin embargo en algunas ocasiones se han logrado aislar bacterias heterótrofas que sí oxidan amonio --->Nitratos pero solo una parte de este nitrógeno inicial es transformado por ejemplo Aspergillus flavus.

#### A. MICROBIOLOGIA Y BIOQUIMICA DE LA DESNITRIFICACION.

Dentro de las varias reacciones que se llevan a cabo en el suelo una de las más importantes es la que se conoce con el nombre de Desnitrificación, éste en esencia es un mecanismo respiratorio, en el cual el Nitrato reemplaza al oxígeno molecular.

La secuencia de este proceso se inicia con la reducción microbiana del nitrato y del nitrito hasta llegar al nitrógeno molecular, el cual es liberado a la atmósfera y en algunas ocasiones se llega hasta los óxidos del nitrógeno  $N_2O$ ,  $NO$ ,  $N_2O_3$ .

Dicha volatilización va a causar una pérdida neta del elemento, lo cual es perjudicial para el suelo por ser un nutrimento esencial, además no va a ser posible que el elemento entre en la estructura celular.

Este proceso se realiza principalmente en condiciones de anaerobiósis, puesto que los microorganismos que lo llevan a cabo van a utilizar al Nitrato y nitrito como fuente de oxígeno y energía. Las bacterias en su



utilización de fuentes de nitrógeno para su desarrollo, - pueden reducir a los Nitratos y nitritos hasta llegar al amoníaco, esta reducción es importante puesto que el nitrógeno se va a encontrar en forma adecuada para la síntesis de aminoácidos dentro de la célula.

En contraste con la desnitrificación el empleo de  $\text{NO}_3$  como fuente nutritiva se le puede denominar como asimilación del Nitrato. Si comparamos ambas trayectorias reductivas, encontramos las siguientes diferencias: los productos finales de la respiración de nitratos son volatilizad<sup>o</sup>s, mientras que los productos de asimilación son incorporados al material celular.

En base a que la liberación de nitrógeno es muy lenta y el realizar la medición de nitrógeno liberado en forma precisa es muy difícil, es necesario emplear técnicas analíticas muy sensibles y estimar la pérdida de nitrógeno haciendo determinaciones de los cambios del contenido de nitrógeno en el suelo con respecto al tiempo.

Determinando en forma precisa la cantidad de nitrógeno que entra al suelo ya sea por precipitación con las semillas al sembrar, con los fertilizantes y abonos y determinando la cantidad de nitrógeno que se pierde por erosión, lixiviación, etc. es posible obtener un balance del nitrógeno del suelo.

Al llevar a cabo experimentos para obtener estos datos, se ha observado que una porción considerable del -nitrogeno desaparece del sistema completamente, esto presumiblemente hace pensar en la volatilización biológica y química de dicho elemento.

#### B. INFLUENCIA DE LOS FACTORES EXTERNOS

El proceso de Desnitrificación, está mas o menos afectado por una serie de factores externos, dentro - de los más importantes podemos mencionar: la presencia o -ausencia de oxígeno (aereación), la cantidad de materia - orgánica presente, el pH, la Humedad y la Temperatura.

La presencia de materia orgánica influye favorablemente la desnitrificación, en campos inundados dicho - proceso es mucho más lento si el suelo es pobre en carbono que en suelos ricos en materia orgánica.

Por lo tanto la efectividad de los nutrimentos- orgánicos en promover la desnitrificación en los suelos - inundados es proporcional a su asequibilidad. Durante períodos lluviosos intermitentes puede ocurrir la formación de nitratos y su reducción.

La desnitrificación del nitrato añadido es aprovechable a altos niveles de agua y en lugares que tienen- drenaje inadecuado. En el caso de suelos drenados, la --

adición de sustancias orgánicas disminuye la pérdida de nitrógeno ya que éste es inmovilizado.

Los materiales podridos de vegetales y animales tienen menor influencia en el proceso, sobre todo en comparación con sustancias frescas. }

La aereación va a afectar el proceso en dos formas que aparentemente se contraponen: (33) (21)

1.- La desnitrificación se lleva a cabo solo -- cuando el suministro de oxígeno es insuficiente para satisfacer la demanda microbiana.

2.- Al mismo tiempo el oxígeno se necesita para formar el nitrato y el nitrito esenciales para el proceso.

Al disminuir la presión parcial de oxígeno, aumenta la desnitrificación del nitrato añadido.

En suelos bien aereados, el proceso también disminuye, el tamaño de agregados también influye en forma directa sobre el intercambio gaseoso, puesto que al aumentar el diámetro de las partículas mejora la aereación, entonces disminuyen las pérdidas de nitrógeno.

La desnitrificación se ve favorecida por los -- agregados de 4 mm de diámetro ya que hacen más difícil la difusión del oxígeno hacia el centro que es el lugar don-

de se realiza la reducción microbiana.

El efecto del agua se atribuye al efecto que -- ejerce sobre la difusión del oxígeno a los sitios de actividad microbiana.

En niveles de humedad por debajo del 60% de la capacidad de retención de agua no ocurren pérdidas y por encima de éste valor la cantidad y rapidez de la desnitrificación es directamente proporcional al régimen de humedad.

En cuanto al pH, en los suelos ácidos la población de desnitrificantes es demasiado baja, y esta población solo llega a ser lo suficientemente grande a pH por encima de 5.5. Las investigaciones han demostrado que la desnitrificación por medios microbiológicos es altamente sensible a la acidez y las pérdidas en estos suelos no -- pueden atribuirse a agentes biológicos. La acidez controla tanto la rapidez del proceso como la cantidad de gases.

La liberación de  $N_2$  es pronunciada en medios -- cuyo pH está por abajo de 6 ó 6.5. El  $NO$  se presenta en cantidades significativas sólo cuando el pH es bajo, a pH por encima de 6 el  $N_2$  tiende a ser el producto gaseoso dominante. Comparando la cantidad de  $N_2O$  con la del  $N_2$ , la proporción relativa del  $N_2O$  es mayor a altos niveles de -- nitratos, esto es cuando la concentración del aceptor de-

electrones (Sal de Nitrógeno) excede la del donador de --  
electrones (la materia orgánica atacable) Cuando hay --  
presentes donadores adicionales el  $N_2O$  es reducido a  $N_2$ .

La temperatura es otro de los factores que van a afectar este proceso, a temperaturas bajas, es decir --  
 $2^{\circ}C$  la Desnitrificación procede lentamente y al aumentar--  
la temperatura se eleva la rapidez de pérdida biológica.--  
La temperatura óptima para la desnitrificación es de  $25^{\circ}C$ ,  
a temperaturas mayores, es decir  $60^{\circ}C$  este proceso es aún  
rápido, pero no es así a temperaturas de  $70^{\circ}C$ . (21)

El hecho de que el proceso es rápido en rangos--  
elevados de temperaturas nos hace pensar en una flora ter--  
mofílica activa. Los efectos a temperaturas bajas tienen  
una considerable importancia económica, porque la reduc--  
ción del nitrato a  $10^{\circ}C$  o temperaturas menores indica la--  
posibilidad de volatilización de nitrógeno durante la ép--  
oca más fría del año, cuando las plantas no asimilan el ni--  
trato formado por la nitrificación.

En resumen, las condiciones para la desnitrifi--  
cación son:

- a.- Un buen suministro de materia orgánica por--  
que los organismos son heterótrofos.
- b.- Presencia de nitratos, indispensable como -  
substrato.

- c.- Condiciones de anaerobiosis necesaria para el mejor desarrollo de los microorganismos.
- d.- Humedad aproximada 60% porque favorece tanto el crecimiento de los microorganismos y además constituye el establecimiento de la anaerobiosis.
- e.- Temperatura óptima 27 a 30°C.
- f.- pH óptimo 7-8, los suelos alcalinos son los más propicios a sufrir la desnitrificación.

Para evitar la volatilización del nitrógeno se recomienda un buen drenaje del suelo, favoreciendo la aereación, escasez de materia orgánica, acidificación de suelos mediante la adición de fosfatos o sulfatos ácidos, y evitar la presencia de nitrógeno reactivo.

#### C MICROBIOLOGIA DE LA DESNITRIFICACION (15)(23) (35)

La presencia de un gran número de bacterias desnitrificantes, no implica necesariamente que las condiciones presentes son las adecuadas, para llevar a cabo este proceso, así mismo el crecimiento de estos microorganismos tampoco va a depender de la reducción del nitrato puesto que este substrato no es específico, además las bacterias desnitrificantes pueden intervenir en otras transformaciones. Esto nos lleva a concluir que la existencia de una gran población de desnitrificantes no es se

ñal de un alto potencial desnitrificante, indica solamente un potencial para una rápida volatilización de nitrógeno en vez de una actividad real.

Las bacterias desnitrificantes son todas aerobias.

#### Principales microorganismos desnitrificantes

Debido a las condiciones estrictas que son necesarias para que la desnitrificación se realice, solo un pequeño número de especies bacterianas efectúan este proceso. Las principales especies se encuentran dentro de los géneros:

Pseudomonas	<u>P. fluorescens</u>	<u>P. aureoginosa</u>
Achromobacter	<u>A. pestifer</u>	
Escherichia	<u>E. coli.</u>	
Bacillus	<u>B. denitrificans</u>	
	<u>Flavobacterium denitrificans</u>	
Micrococcus	<u>M. denitrificans.</u>	

En este proceso los géneros de bacterias más importantes son Achromobacter y Pseudomonas, a pesar de que el género Bacillus es muy abundante no se le atribuye gran importancia.

Las especies activas se desarrollan en forma -

aeróbica en ausencia del nitrato o en forma anaeróbica - por su presencia en este caso los productos no son gaseosos sino más bien  $\text{NO}_2$  o amonio, por lo tanto el nitrato - va a ser el aceptor de electrones para el crecimiento en ausencia del oxígeno.

También algunos géneros quimioautotróficos son capaces de llevar a cabo esta reducción, dentro de estos podemos mencionar al M. denitrificans que es un quimioautótrofo facultativo; el Thiobacillus denitrificans, que es un quimioautótrofo oxidante de azufre, que tiene la habilidad de desarrollarse en forma anaerobia en medios que contengan nitratos, también puede crecer en condiciones aeróbicas.

Existen bacterias que reducen el nitrato, en base a que dicha reducción la requieren para el proceso de síntesis proteica entonces el microorganismo utiliza el nitrato como nutrimento necesario para la síntesis proteica dentro de la célula.

Bajo determinadas condiciones los hongos y los Actinomicetos reducen el nitrato de amonio.

Podemos entonces resumir 3 reacciones microbianas de  $\text{NO}_3^-$ :

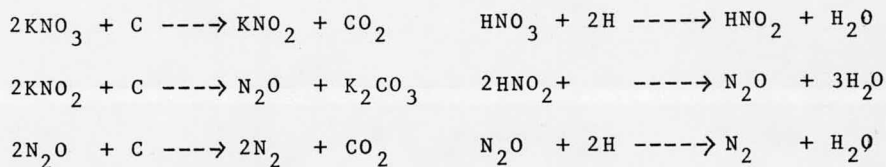
- 1) Reducción completa del  $\text{NO}_3^-$  a amonio, con aparición frecuente de  $\text{NO}_2^-$ .



- 2) Una reducción incompleta del  $\text{NO}_2^-$  y acumulación.
- 3) Una reducción a  $\text{NO}_2^-$  seguida del desprendimiento de productos gaseosos, esto es Desnitrificación.

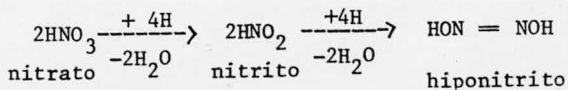
#### D. BIOQUIMICA DE LA REDUCCION DEL NITRATO

Las reacciones de la desnitrificación pueden expresarse así:



La desnitrificación no es una respiración anaerobia en su definición restringida, sino más bien tiene un carácter básico aerobio con el  $\text{NO}_3^-$  reemplazando al oxígeno, no siendo el  $\text{NO}_3^-$  una "fuente de energía" sino un aceptor de electrones o de  $\text{H}_2$ .

Posible Mecanismo Bioquímico de la Reducción del  $\text{NO}_3^-$  y Desnitrificación. (21)



Esta ruta supone que la reducción del  $\text{NO}_3^-$  a amoníaco procede por una secuencia de cambios de 2 electrones, del estado de oxidación +5 del  $\text{NO}_3^-$  al -3 del amoníaco, un cambio de 8 electrones. Las enzimas responsables son llamadas reductasas que requieren de molibdeno como cofactor, reductasas de  $\text{NO}_2^-$  e hiponitrito que emplean  $\text{Cu}^{++}$  y  $\text{Fe}^{+++}$  y de hidroxilamina que emplea  $\text{Mn}^{++}$  como cofactor.

#### GENERALIDADES DE LOS HONGOS

Los hongos presentan un papel muy importante en la microbiología del suelo, estos van a ser particularmente activos en el estado de descomposición de los residuos de plantas, en el proceso de agregación que se realiza en el suelo, contribuyen en el suelo junto con las bacterias en la descomposición de desechos orgánicos complejos, en compuestos nitrogenados más simples que la planta utiliza como alimento y en diversos procesos que se realizan en el suelo. (22)(33)

Morfológicamente los hongos se caracterizan por su aspecto filamentosos típicos, entonces la clasificación de los hongos depende lero de las diferencias en la estructura de los filamentos, estos pueden ser típicos o extraordinariamente ramificados, constituyen a las estructuras llamadas micelios, en muchos hongos estos micelios

lios son tabicados (septados); los micelio a su vez forman las unidades llamadas hifas, esto nos indica que en el caso de los micelios tabicados las hifas se dividen por paredes transversales (septos), en una serie de células cilíndricas unidas por sus extremos. Por otro lado los Phycomycetos presentan filamentos no tabicados en el crecimiento. Las hifas no tabicadas permiten que el citoplasma multicelular fluya sin interrupción a lo largo del filamento y - por lo tanto se dice que el micelio es cenocítico.

Los micelios pueden ser vegetativos o reproductivos, los micelios vegetativos están relacionados con la nutrición, ya que van a absorber alimentos del medio y la energía necesaria para el desarrollo Esta función la obtiene de la descomposición de diversas materias orgánicas, - tanto de origen vegetal como animal, no son capaces de obtener energía de la oxidación de sustancias inorgánicas, - es decir son exclusivamente heterotróficos. Tampoco pueden aprovechar la luz solar porque carecen de pigmentos fotosintéticos, y en tal virtud se les encuentra como saprófitos o como parásitos. Desde el primer punto de vista tienen gran importancia ya que pueden transformar grandes cantidad de materia orgánica. La parte de desarrollo que se proyecta desde la superficie al aire es el micelio aéreo, - es la masa característica del micelio aéreo lo que da el - aspecto vellosos.

Los micelios reproductores están encargados de la función de reproducción ya sea sexual o asexual, en los hongos saprófitos, algunas de las hifas aéreas se diferencian en estructuras especiales, en cuyas puntas se forman las esporas reproductoras. El grupo terminal de filamentos sobre ésta hifa fecunda en la que se forman esporas, se llama cuerpo, cuerpo fructificante ó esporóforo.

En el caso de los Phycomycetes la punta de cada hifa fecunda se alarga dentro de una cabeza peculiar llamada columela, a su alrededor se desarrolla un saco redondo, que es el esporangio, dentro del cual se forman las esporas.

En otros hongos comunes (*Penicillium*) la parte terminal de las hifas fecundase ramifica de una manera característica formando tallos cortos digiformes llamados es terigmas ó células en forma de botella llamadas fiádes. Todos los hongos se reproducen por esporas de uno ú otro tipo. En los hongos más desarrollados las esporas reproductoras se forman asexualmente en un gran número sobre hifas fecundas, característicamente diferenciadas. En otros hongos se producen las esporas directamente de la parte que se desarrollo (vegetativa) del hongo, sin ninguna estructura reproductiva especial. Los principales tipos de esporas asexuales son: Blastosporas, Clamidosporas, Artrosporas, - Esporangiosporas y Conidios y las sexuales: Zigosporas y - Ascosporas.

## B. Hongos del Suelo.

Debido a las diversas actividades, sus características tan heterogeneas y complejas de los hongos, y además en parte porque todavía se desconoce el papel que numerosas especies micológicas desempeñan en el suelo no existe una clasificación adecuada para aplicarla directamente al estudio de la población fúngica del suelo, vamos entonces a enumerar los principales grupos fúngicos (22) que tienen representantes en el suelo:

Eumycetes.- Dentro del cual se encuentran: Phycomycetes los cuales a su vez se encuentran divididos en Archimycetes, Oomycetes, Zygomycetes.

b. Ascomycetes.- Dentro de los cuales se encuentran: Plectomycetes, Pyrenomycetes, y Discomycetes.

c. Basidiomycetes.- Los cuales han sido divididos en: Hemibasidiomycetos, Autobasidiomycetos, y Protobasidiomycetos.

## C. Factores Limitantes en el Crecimiento de los Hongos (2)

(24).

Estos factores limitantes pueden ser aprovechados para el desarrollo selectivo de los hongos, y de esta manera es posible aislarles de las bacterias. Dentro de estos factores podemos hacer mención del pH, a pH ácidos se va a observar un predominio de la microflora fúngica, los-

hongos van a ser inhibidos a pH alcalinos o neutros. Se ha observado que los pH alcalinos o neutros son tóxicos para las plantas.

La humedad es otro de los factores limitantes para ésta flora se ha observado que en suelos áridos la cantidad de hongos presentes es baja y se encuentran en forma esporulada y en suelos húmedos los hongos se van a ver incrementados. Por otra parte la competencia en suelos otro de los factores limitantes, presentándose una constante competencia entre la microflora del suelo, debido a la complejidad del mismo.

La aereación es muy importante ya que la mayoría de los hongos son aerobios estrictos, esto va a hacer que se encuentren en las capas superiores del suelo y que en las inferiores se presenten más en forma esporulada, en éste aspecto es muy importante el tamaño de las partículas del suelo, y una buena difusión de oxígeno en el lugar en que se encuentran los hongos.

Los hongos son fundamentalmente zimógenos y por ello se encuentra la mayor parte de su población en bosques pradera ya que hay gran cantidad de materia orgánica que es otro factor importante.

Los hongos tienen un papel importante, en la humificación forman agregados ya que sus pseudohifas englo-

ban a las partículas del suelo, incorporan mucha materia orgánica, dejando sustrato nitrógeno en el suelo.

Algunas especies tienen un papel importante en el bosque forestal, al asociarse en simbiosis con las raíces de coníferas principalmente. El resultado de esta asociación es la producción de nódulos en las raíces, conocidos como micorrizas. El papel de estos nódulos no es bien conocido aún sin embargo se efectúan estudios intensos en varios países, entre ellos México que van arrojando resultados positivos.

Se ha demostrado que los árboles "micorrizados" tienen mayor resistencia al ataque de microrganismos fitopatógenos y a las plagas, además de tener un mayor crecimiento.

### III. . M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

#### Descripción y Muestreo del Suelo Forestal.

##### Introducción.

En base a estudios realizados por Winodrasky, - Hiltner (33) y otros autores se ha demostrado que un suelo dado va a contener siempre, en un tiempo determinado y en una misma capa, una flora bacteriana uniforme y por el contrario, cualquier cambio que se presente en dicho y en las condiciones de muestreo van a cambiar las relaciones bacterianas.

Es necesario también efectuar varios muestreos - ya que un solo muestreo carece de valor en base a la heterogeneidad de los suelos. Es necesario que la recolección de las diferentes muestras se lleve a cabo de la misma - forma es decir, mismas condiciones y profundidad.

Las muestras obtenidas, deben ser llevadas al - laboratorio y analizadas en el menor tiempo posible, con el objeto de evitar errores, ya que la población se altera fácilmente.



A. Descripción de la Toma de Muestra.

1. Se tomó la muestra de suelo correspondiente a los análisis microbiológicos, a una profundidad de 0.20 cm; para obtener dicha muestra se procedió inicialmente a eliminar la hojarasca, musgo etc., (si es que había en el sitio de muestreo) y posteriormente se hicieron cortes longitudinales mediante una espátula previamente esterilizada y recogiéndose inmediatamente con una palita estéril. La cantidad de muestra así obtenida fué de 500 g. estos posteriormente fueron colocados en bolsas de polietileno-estériles, las cuales fueron cerradas herméticamente con ligas.

2. Se recolecto 1 Kg. del mismo suelo a la misma profundidad para las determinaciones de análisis físicos y químicos.

3. Se obtuvieron muestras de rocas afloradas, adyacentes a este sitio, raspando la superficie con cincel y martillo desinfectados. Las muestras se envasaron en la misma forma que las de suelo para estudio microbiológico.

4. Se obtuvieron de muestras las superficies de los troncos de 6 árboles (Oyamel, Pinus) que forman parte de éste bosque raspando con un cuchillo desinfectado.

tado y envasado el material en la misma forma que el de la roca.

5. Se recolectaron también muestras de material herbáceo y arbóreo para su identificación.

B. Descripción de los Sitios de Muestreo.

SITIO No. 1

El sitio No. 1 se caracterizó por ser boscoso, de abundante vegetación, pudiendo observarse también la presencia de desechos comestibles (latas, bolsas, cáscaras de frutas etc.) que van a causar alteraciones en el ecosistema del bosque y que nos determinan la presencia del hombre en dicho sitio.

Por otra parte se pudo observar que el suelo de éste sitio se caracterizaba por ser esponjoso, esto se debe principalmente a la presencia de musgo, es un suelo blando, húmedo, con presencia de materia orgánica en su superficie.

SITIO No. 2

El sitio No. 2 se escogió por presentar una zona de suelo erosionado, se observó también la presencia de restos de la tala (tocones), la presencia de ganado va

cuno, bovino, porcino y estar a un lado de una zona de -  
cultivo de cebada.

El suelo en este caso estaba seco, duro, con pas-  
tizales secos, se observó la presencia de una ligera es-  
carcha, lo cual hacía que la temperatura interna del sue-  
lo fuera baja, también en éste caso se observó la presen-  
cia de restos comestibles evidente prueba del uso recrea-  
tivo, por el hombre, de este lugar.

#### SITIO No. 3

Este sitio se caracteriza por ser boscoso, con-  
una abundante vegetación, con escaso crecimiento de herbá-  
ceas.

En la cercanía, existen unas construcciones de-  
mampostería.

El suelo se observó seco en unas partes y en -  
otras húmedo, así como también la presencia de manchas de  
estiercol porcino.

#### SITIO No. 4

La zona de muestreo en este caso presentó una -  
abundante vegetación y una gran cantidad de árboles.

El suelo se caracterizó en este caso también -  
blando, con abundante materia orgánica, en este caso tam-

bién se observó la presencia de desechos comestibles, (en volturas, papeles, botellas, etc.) indicación de probables alteraciones al ecosistema del bosque provocadas por el hombre y además características de un parque de diversión. También en este caso se observó el paso de ganado caprino y bovino, por este lugar.

#### B. Métodos Físicos y Químicos.

Para el análisis físico y químico de las muestras de suelo recolectadas de acuerdo al inciso (A), se siguieren las metodologías que se describen a continuación:

#### DETERMINACION DEL COLOR DE SUELO FORESTAL

Son dos los factores que caracterizan el color del suelo: el contenido de humus y la naturaleza química de minerales primarios y secundarios. Los colores que esencialmente se distinguen son: Oscuros: negro, gris ó café los cuales se deben a la presencia de sustancias húmicas. b) Amarillos Castaños o Rojos que se deben a la presencia de óxidos e hidróxidos de fierro coagulados con sustancias húmicas u otros coloides minerales. c) Blancos ó Grises claros lo cual se debe a la existencia de ácido silícico, caolinita, hidróxidos de aluminio, calcaíta ó yeso del suelo.

Mediante las Tablas Munsell se puede determinar el Color (representa el espectro dominante: rojo, amarillo, verde, azul); Valor el cual se refiere a la claridad relativa del color y la Croma que representa la pureza relativa o intensidad del color.

#### Material Utilizado

Placas de porcelana con excavaciones  
Pipetas de 1 ml.  
Muestra del Suelo  
Agua destilada  
Tablas Munsell.

#### Metodología Utilizada

Se colocan en las excavaciones de la placa dos porciones de cada muestra de suelo (4 muestras), y se adiciona el agua suficiente para humedecer solo a una de las dos porciones de cada muestra, debe evitarse adicionar agua en exceso, ya que esto podría falsear los resultados, por la brillantez que le va a dar a éste. Se determinó el color tanto en suelo seco como en suelo húmedo, mediante las Tablas de Color Munsell para suelos. Indicando: Color Valor, y Croma.

## C. DETERMINACION DE EL PORCIENTO DE HUMEDAD DEL SUELO.

### A. Principio. (7)

Las relaciones del suelo con el agua y los efectos biológicos de la humedad son de gran importancia, ya que el contenido de agua en el suelo determina diversas situaciones como son; el proveer las condiciones necesarias para la acción biológica óptima; parte del agua que se mueve con el arrastre de la gravedad, se sitúa dentro de los poros mayores afectando directamente la aereación; la humedad es importante para la flora subterránea debido a que contiene los nutrimentos que son requeridos por la microflora solubilizándolas y transportándolos de unas zonas a otras. El agua además forma parte de los factores ambientales que actúan directamente sobre la roca para formar los suelos.

La humedad del suelo puede ser de tres tipos: capilar, que es el agua que ocupa los poros o capilares del suelo y es aprovechada por raíces y bacterias; la humedad de gravedad que está en la humedad higroscópica que es el agua eléctricamente adsorbida a las partículas y no es aprovechada por las raíces de la planta, ésta es la que queda después de que la muestra se seca al aire precisamente es la que se determina en el análisis de % de humedad.

## B. Material Utilizado

Pesafiltro con tapa.

Desecador.

Balanza analítica.

Pinzas.

Estufa a 105°C

## C. Metodología Utilizada

Se pesan 5 gr. de suelo tamizado y se coloca dentro de un pesafiltro previamente pesado y puesto a peso constante. Se coloca dentro de la estufa a los 5°C hasta tener el peso constante, el tiempo que se requiere fluctúa entre 2 y 5 hrs. y en el caso de muestra muy arcillosa se deja durante toda la noche.

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{A - B}{A - C} \times 100$$

A = Peso del pesafiltro más suelo húmedo.

B = Peso del pesafiltro más suelo seco.

C = Peso del pesafiltro vacío.

## B. DETERMINACION DEL pH DEL SUELO

### A. Principio. (7)

Se dice que la reacción del suelo es causada por la concentración de iones  $H^+$  y  $OH^-$  en una solución -

o suspensión de suelo. La acidez es debida a un exceso de iones  $H^+$  sobre iones  $OH^-$  y la alcalinidad, a un exceso de iones  $OH^-$  sobre iones  $H^+$  .

Actualmente el valor de pH expresa la actividad más bien que la concentración de iones  $H^+$  ó  $OH^-$ .

El valor de pH ejerce una influencia definitiva sobre las funciones vitales de organismos, utilización de alimentos, en las propiedades de suelos, etc.

Este valor puede servir como una herramienta útil en el manejo de los suelos para la producción de cosechas de granjas ó bosques.

Un cambio en el valor de pH altera muchas propiedades fisicoquímicas del ecosistema, alterando la composición de la comunidad, las transformaciones efectuadas por la microflora puede hacer más disponibles algunos nutrientes, a las plantas.

#### B. Material Utilizado

Vaso de precipitado.

Agitador de Vidrio.

Potenciómetro.

Balanza.

Agua Destilada.



C. Metodología Utilizada

- a. Se pesan 50 gr. de suelo y se agregan 125 ml. de agua-destilada. (relación 1:2.5).
- b. Agitar durante 5 min.
- c. Tomar la lectura de pH siguiendo las instrucciones del potenciómetro que se utiliza.

En suelos en donde se han obtenido resultados - más o menos constantes y que tienen de 2 a 5% de coloides, se recomienda ésta relación y en suelos arenosos, en donde se registran muchas variaciones se recomienda emplear una dilución mayor.

TEXTURA DEL SUELO (Método de Bouyoucos)

A. Principio. (7)(5)

Propiedades texturales o granulométricas de - suelos.- Los suelos incluyen dos fracciones ecológicamente importantes: la fracción gruesa y la fracción fina. La fracción gruesa comprende las partículas de un diámetro - mayor a 0.05 mm. e incluye a las rocas grava, y arena; - la fracción fina son todas aquellas partículas de un diámetro menor a 0.05 mm y comprende limo y arcilla.

Las dos fracciones pueden separarse agitando el suelo con agua y dejando que la suspensión se sedimente.-

Después de un tiempo el material grueso ha sedimentado - mientras que la arcilla y el limo quedan en suspensión. - Las cantidades relativas de las partículas finas y gruesas del suelo, determinan la textura.

El material grueso representa el esqueleto del suelo, y su función está mas bien limitada a dar un soporte físico a las planta jugando un papel menos importante en su nutrición; el material fino es la porción activa - del suelo, la cual por medio de sus propiedades de adsorción cumple con diversas funciones ecológicas. Esta es la porción donde se efectúan las reacciones más importantes del suelo. Las designaciones texturales del suelo tienen un propósito más importante que las simples subdivisiones ya que tiene gran importancia en la actividad biológica.

#### B. Material Utilizado

Agitador de mano.

Agitador para la dispersión del suelo.

Probeta de 1000 ml.

Vaso de precipitado de 300 ml.

Balanza.

Hidrómetro de Bouyucos con escala de 0 a 60.

#### C. Reactivo Utilizados

Agua oxigenada al 6%

Oxalato de sodio, disolver 30 gr. de oxalato de sodio en un litro de agua destilada.

Metasilicato de sodio.- disolver 50 gr. de metasilicato de sodio en un litro de agua y ajustar la solución hasta obtener una lectura de 36 con el hidrómetro.

#### D. Metodología Utilizada

- a. Pesar 60 gr. de suelo de textura fina y colocarlo en un vaso de precipitado de 500 ml., añadir 40 ml. de agua oxigenada y poner a evaporar hasta sequedad. Adicionar otros 40 ml. de agua oxigenada y observar la reacción. Evaporar nuevamente a sequedad. Repetir el tratamiento hasta que no exista efervescencia al añadir el agua oxigenada. En general dos ataques son suficientes para la mayoría de los suelos.
- b. Después de eliminar la materia orgánica, se pesan 50gr. de suelo de textura fina y se colocan en un vaso de precipitado de 250 ml. se adiciona agua hasta cubrir la superficie del suelo esto es aproximadamente 2 cm. de metasilicato de sodio mas 5 ml. de la solución de oxalato de sodio, dejar reposar durante 15 minutos.
- c. Transferir el contenido del vaso a la copa de agitación y conectar el motor durante 15 min. Si el suelo -

tiene un alto contenido de arcilla la agitación se prolonga hasta 30 min.

- d. Vaciar el contenido de la copa en una probeta de -  
1000 ml., lavando la copa con agua destilada. Agregar-  
agua hasta completar un volumen de 1 lt. con el hidró-  
metro colocado en el interior de la suspensión. Sacar-  
el hidrómetro y suspender el suelo agitando durante 1-  
minuto con el agitador de mano.
- e. Tomar las lecturas con el hidrometro a los 40 seg. y a  
las 2 hrs. después de haber terminado la dispersión -  
con el agitador de mano.
- f. Para hacer la lectura, se coloca el hidrómetro dentro-  
de la probeta 2o. segundos antes del momento de la de-  
terminación, cuidando de alterar lo menos posible la -  
suspensión. Después de hecha la lectura se saca el hi-  
drómetro y se lava, se seca y se determina la tempera-  
tura de la suspensión.

#### DETERMINACION DE LA MATERIA ORGANICA DEL SUELO (Método de Walkley y Black).

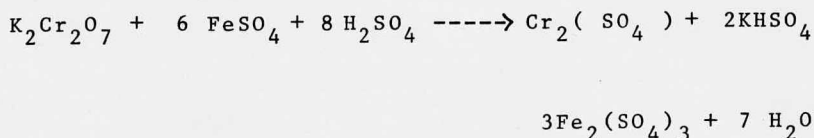
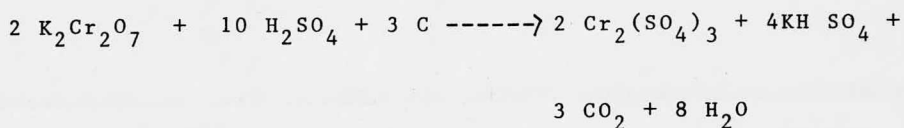
##### A. Principio

La materia orgánica del suelo muestra diversos-  
estados de descomposición. Generalmente se distinguen dos  
grupos:

1. Tejido orgánico original y los productos de su descomposición parcial.
2. El complejo proteínico más lignificado llamado humus - que es producto de las actividades de síntesis y descomposición de la microflora. El humus retiene agua, iones y gases y debido a su dinámica, se suele citar como elemento vital del suelo.

Los suelos que presentan condiciones óptimas para el cultivo contienen un volumen de casi 50% de materia sólida y de ésta, aproximadamente el 5% es de materia orgánica, y el 45% de mineral.

Para llevar a cabo esta determinación, vamos a cuantificar la presencia de uno de los componentes de la materia orgánica que se presenta en una forma relativamente constante, éste es el carbono. En ésta práctica vamos a llevar a cabo la oxidación del material del suelo, empleando el calor liberado en la dilución del ácido sulfúrico. La muestra de suelo es tratada con un exceso de agente oxidante que es el dicromato de potasio y el exceso de éste se determina por titulación con una solución valorada de una sal ferrosa, las reacciones son las siguientes:



#### B. Material Utilizado

Matraces erlenmeyer de 500 ml.

Pipetas de 10 ml.

Probeta de 50 ml.

Bureta de 50 ml.

#### C. Reactivos Utilizados

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  1 N.

$\text{H}_2\text{SO}_4$  conc.

$\text{H}_3\text{PO}_4$  85%

Difenilamina (indicador) al 5% en Solución de -  
ácido sulfúrico al 80%. Sulfato Ferroso 0.5N Solución.

#### D. Metodología

a. Se pesaron 0.1 g. de suelo forestal secado y se coloca

- ron dentro de un matraz erlenmeyer de 500 ml.
- b. Se adicionaron 10 ml. de la solución de  $K_2Cr_2O_7$  1N empleando para ello la bureta, se mezcla perfectamente bien por agitación, posteriormente se adicionan 20 ml. del  $H_2SO_4$  conc. y se agita cuidadosamente durante un minuto. En éste paso es en donde se libera el calor que es utilizado en la oxidación de la materia orgánica.
- c. Se deja reposando el matraz durante 30 minutos para acompletar la reacción de oxidación.
- d. Se diluye el contenido del matraz con 200 ml. de agua destilada observándose un aclaramiento de la suspensión lo cual permite observar el punto final de la titulación.
- e. Se adicionan 5 ml. de  $H_3PO_4$  al 85% y 3 gotas del indicador.
- f. Se lleva a cabo la titulación con la solución 0.5 N de sulfato ferroso. Una titulación en blanco con la solución ferrosa 0.5 N nos proporciona la coloración verde del punto final. Al principio de la titulación la solución es de un color verde oscuro debido a la presencia del ión  $Cr^{3+}$  después toma un color azul turbio y finalmente un color verde brillante que es el punto fi

nal de la titulación. Si el consumo de la solución ferrosa es menor de 4 ml. se debe repetir la determinación porque ésto nos está indicando que la materia orgánica no fué oxidada completamente.

g. Se corre un testigo llevando a cabo el mismo procedimiento solo que no se adiciona la muestra de suelo.

#### E. Calculos.

$$\% \text{ Materia Orgánica} = \frac{(\text{ml. de } K_2Cr_2O_7 \text{ reducidos}) \times 0.0003 \times 11.33 \times 1.73 \times 100}{\text{gramos de muestra de suelo}}$$

1 ml. de sol.  $K_2Cr_2O_7$  equivale a 1 ml. de sol. de  $FeSO_4$  1N.

1 ml. de  $H_2Cr_2O_7$  equivale a 0.003 gramos de Carbono.

1.33 es el factor de corrección a 100 % de efectividad del método suponiendo que el método es efectivo en un 75%.

1.72 es el factor de conversión de carbono a materia orgánica suponiendo que a cada 100 gramos de materia orgánica existen 58 gr de carbono.

100 expresa los gramos de materia orgánica en porcentaje.

Tomando en consideración la titulación del testigo la fórmula es la siguiente:

$$\% \text{ de Materia Orgánica} = \frac{(T-P) \times N \times 0.69}{\text{grms. de muestra}}$$

T = ml. de solución ferrosa gastados en la titulación del testigo.



P = ml. de solución ferrosa gastados en la titulación del problema.

N = Normalidad de la solución ferrosa.

0.69 es el resultado de multiplicar todos los factores - constantes en la fórmula primeramente citada.

#### DETERMINACION DE NITROGENO (26)

(Método de Kjeldahl Modificado)

##### A. Principio

Método analítico para determinar nitrógeno total.

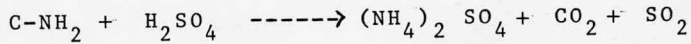
Una modificación al método de Kjeldahl es el método usado en la determinación del nitrógeno total en los suelos.

Aunque los métodos usuales no incluyen nitratos y otras formas de nitrógeno, el método se refiere generalmente como la determinación de nitrógeno total.

Los nitratos y otras formas de nitrógeno no son estimables en comparación con el nitrógeno orgánico. Sin embargo, cuando se cree que los nitratos u formas de nitrógeno estén en contenidos altos en el suelo el método de Kjeldahl puede ser modificado para incluirlos. Este método está dado por la Asociación Oficial de Químicas Agrícolas (AOAC) (1950) y por Chapman y Pratt (1961). Bal. (1925) indica que suelos de arcilla pesada deben ser remo

gados en agua antes de la digestión, de otra manera los valores del nitrógeno pueden ser bajos.

La mayoría del nitrógeno del suelo está en la forma proteínica como grupo amino pegado a un carbono (C-NH<sub>2</sub>). La materia orgánica reacciona con el ácido sulfúrico como sigue:



El producto de la oxidación se efectúa lentamente, así que se adicionan catalizadores tales como Cobre, Selenio, o Mercurio. La reacción puede ser más rápida si elevamos rápidamente el punto de ebullición adicionando sulfato de sodio ó sulfato de potasio. Después de la digestión la solución se hace fuertemente básica y se destila en un ácido diluido. La solución se titula con un ácido estandarizado para determinar la cantidad de NH<sub>3</sub> obtenido.

#### B. Aparatos.

Tren digestor destilador.

Matraces Kjeldahl de 800 ml.

Matraces erlenmeyer de 500 ml.

Buretas graduadas de 200 ml.

C. Reactivos.

Acido sulfúrico concentrado.

Mezcla de digestión 32 gr. de Sulfato de Cobre.

Anhidro con 1000 gr. de Sulfato de Sodio.

Zn metálico en gránulos.

NaOH 40%.- se disuelven 3000 g. de NaOH en 4500 ml. de agua.

Indicador rojo de metilo-azul de metileno.- 0.6 g. de rojo de metilo y 0.4 g de metileno en 500 ml. de alcohol etílico al 95%.

Acido Bórico al 4%.- se disuelven 40 g. de  $H_3BO_3$  en un litro de agua destilada.

Acido Clorhídrico 0.1 N .- se estandariza con  $Na_2CO_3$ .

Se pesan en una balanza analítica 5 g de muestra si es suelo limoso ó 10 g si es suelo arenoso ó 1 g - si es suelo de turbera. Todos los suelos deben estar secos o hacer correcciones por determinación de humedad a cada suelo, por ejemplo, desecando a 105°C toda la noche. Transfiera la muestra envuelta en papel filtro de cenizas conocidas escurriéndola al matraz Kjeldahl. Adiciones - una cuchara (11 gr.) de la mezcla de digestión al matraz, a través de un embudo y un gránulos de zinc. Se ponen - - 35 ml. de  $H_2SO_4$  concentrado resbalando por el cuello del matraz hasta que toda la sal sea bañada por el ácido. Agi

te suavemente de manera que el suelo y el ácido se mezclen. Se pone el matraz en el digestor y se calienta con flama-baja los minutos. Después suba el calor gradualmente y digiera por 2 ó 3 hrs. hasta que la solución tenga una colo-ración gris claro o un color rojizo. No se debe calentar-más allá de una ebullición suave o se puede volatilizar - el ácido antes de que la flama toque al matraz por encima de la superficie del líquido o el  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  se puede des-componer y algún  $\text{NH}_3$  se puede perder.

Se enfria el matraz y entonces se colocan 25 ml. de ácido bórico al 4% y 5 gotas del indicador rojo de me-tilo-azul de metileno en un matraz erlenmeyer de 500 ml.- se coloca el tubo receptor del aparato de destilación den-tro del contenido del matraz erlenmeyer. El ácido bórico- en este procedimiento reacciona con 40 mg. de nitrógeno - amoniacal.

Después de que el matráz Kjeldhal esté frío, - se adicionan cuidadosamente 300 ml. de agua destilada, - y se mezcla fuertemente para disolver cualquier pasta. - No se debe adicionar al  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado caliente, la so-lución forma una pasta sólida al enfriarse y es difícil - disolverla. Posteriormente se coloca el matraz Kjeldhal- en un ángulo de 45 y adicione lentamente 125 ml. de NaON- al 50% de manera que escurra por los lados del matraz has-ta el fondo sin formar una mezcla.

Se adicionan 2 ó 3 granallas de zinc y rápidamente se tapa el matraz con el destilador. Se enciende la parrilla o mechero y se ajusta el calor o flama baja. Se agita el matraz hasta mezclar fuertemente su contenido y se coloca en el aspecto del destilador. Gradualmente se aumenta la flama o calor y se hierve hasta que cerca de 200 ml. se hayan destilado. Se titula ésta cantidad con el ácido clorhídrico 0.1 N.

La mayoría del  $\text{NH}_3$  destila en los primeros minutos, el total de la destilación se recoge. Cuando se haya completado la destilación, se remueve el matraz conteniendo el Borato de amonio de la pipeta de destilación y se apaga el mechero de otra manera la solución será sifoneada al matraz kjeldhal cuando este se enfríe. Se corre un testigo periódicamente con el proceso completo para obtener el aumento de nitrógeno en los reactivos.

#### D. Cálculos

Miliequivalentes de N = ml. de HCl utilizados por la muestra al titularse.

mg de N = meq. de N X 14 mg/meq.

$$\% \text{ N}_{\text{total}} = \frac{\text{ml. de HCl} \times \text{N} \times 1.4}{\text{gr. de muestra}}$$

DETERMINACION DEL FOSFORO (29)A. Principio.

El fósforo es relativamente estable en los suelos. No presenta compuestos inorgánicos como los nitrogenados que pueden ser volatilizados y lixiviados. Esta alta estabilidad resulta de una baja solubilidad que a veces causa deficiencias de disponibilidad de P para las plantas, a pesar de la continua mineralización de compuestos orgánicos del suelo. Esto puede evitarse en parte a través de una fertilización fosfatada pero los fosfatos aplicados al suelo son objeto de reacciones rápidas de fijación. Así la dinámica del fósforo en el suelo incluye una serie de reacciones y transformaciones. Los grandes variaciones en el contenido de fósforo se deben a la variabilidad de las rocas parentales, al desarrollo de los suelos y a otras condiciones edafológicas.

B. Reactivos.

- a) Solución calibrada de fósforo.- disuélvase 0.0439 gr.- de fosfato monopotásico Q.P. ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en un litro de solución extractora. Esta solución contiene lo p.p.m.- de fósforo. (P).
- b) Solución de Molibdato de amonio.- En un frasco volumétrico de 1 litro, disuélvase 15 gr. de molibdato de -

amonio tetrahidratado en 300 ml. de agua destilada. - Entonces agréguese lentamente y con agitación continua 500 ml. de ácido clorhídrico concentrado. Déjese enfriar la mezcla hasta llegar a la temperatura del medio ambiente y entonces afórese hasta 1 litro. Mezclése perfectamente y guárdese en un frasco ámbar de tapón esmerilado. Este reactivo deberá prepararse cada 3 meses.

- c) Solución de Oxalato Estanoso.- Disuélvase 0.5 gr. de oxalato estanoso en 100 ml. de ácido clorhídrico diluído (1 parte de HCl y 9 partes de agua destilada). Filtrase a través de un papel filtro whatman No. 40 recibiendo el filtrado en un embudo separatorio. Cubrase ésta solución con una capa de 1.5 cm. de aceite de parafina, éste reactivo deberá prepararse cada mes.

### C. Procedimiento.

Colóquense 4 ml. del extracto del suelo en un tubo de fondo plano (65 X 19 mm.) y agréguese rápidamente 1 ml. de solución de molibdato de amonio, procurando que ésta se deslice por las paredes del tubo y mézclase bien inmediatamente después de terminarse la adición de éste reactivo.

Después de agregarse la cantidad indicada de molibdato de amonio a todos los tubos con incógnita a di-

luciones de la solución calibrada de fósforo, agréguese 3 gotas de la solución de oxalato estanoso a cada uno de éstos, agitando inmediatamente en forma vigorosa después de cada adición. Compárese la intensidad del color azul obtenido en las incógnitas, con la de las diluciones de la solución de la solución calibrada de fósforo.

Nota importante.- Es de gran importancia que la adición de molibdato de amonio se lleve a cabo en la forma antes indicada, puesto que si no se agita inmediatamente después de agregarse este reactivo habrá serios errores en los resultados, debido a la formación de complejos silico-molibdicos.

Las siguientes diluciones de la solución calibrada de fósforo son de empleo conveniente para las comparaciones colorimétricas con las extracciones del suelo.

ml. de solución calibrada de P.	ml. de solución Extractora.	p.p.m. P	Kg/Ha de P (p.p.m. X 14) (1)
0.00	4.00	0	0
0.20	3.80	0.5	7
0.40	3.60	1	14
0.80	3.20	2	28
1.60	2.40	4	56
2.40	1.60	6	84
3.20	0.80	8	112
4.0	0.80	10	140

(1) Los valores de Kg/Ha son válidos solo al emplearse una relación 1:5 Suelo - solución extractora.



DETERMINACION DE POTASIO, (29)A. Principio.

La corteza terrestre contiene aproximadamente un 2.5% de K, siendo el contenido de potasio mayor en las rocas ígneas que en las sedimentarias. El contenido de potasio varía en los suelos. En casos excepcionales como en suelos alcalinos el contenido de potasio puede llegar hasta el 8%. El potasio que se presenta en los suelos asociado a los silicatos, o sea, el potasio que se presenta en forma estructural, representa la mayor parte del K en el suelo; en cambio éste potasio no es disponible directamente para la planta pero participaron los procesos dinámicos con reacciones lentas. Solamente a través del proceso lento de la meteorización se liberan participando en los diferentes procesos del suelo. La determinación del potasio total se basa en la digestión de una muestra de suelo con ácidos fuertes; generalmente se usa el ácido fluorhídrico (HF) ó su mezcla con ácido sulfúrico. Se pueden emplear también para ello el ácido nítrico y el ácido perclórico .

B. Reactivos.

- a) Solución calibrada de Potasio.- Disuélvase 0.0763 g de cloruro de potasio (KCl) Q.P. en 1 lt. de solución extractora. Esta solución contiene 40. p.p.m. de k.
- b) Solución de Nitrato de Cobalto hexahidratado  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

En un frasco volumétrico de 250 ml. disuélvase 6.25g. de nitrato de cobalto hexahidratado y 75 gr. de nitrato de sodio en 175ml. de agua destilada, agréguese - 5 ml. de alcohol metílico glacial (de 99.5% de pureza) y mézclese muy lentamente. Hay pérdidas debido a la - reacción violenta de gas. Cubrase el frasco volumétrico con un vidrio de reloj y déjese reposar unas 16 hrs. con el fin de que no desprenda el óxido nítrico formado. Dilúyase a 250 ml. con agua destilada, mézclese - perfectamente y filtrése. Este reactivo puede conser-- varse durante un mes, si se guarda en un frasco ámbar- de tapón esmerilado y en refrigerador.

c) Alcohol Isopropílico Q.P.

d) Aldehído fórmico Q.P. (de 37% de pureza).

### C. Procedimiento

Colóquense 2 ml. de extracto de suelo en un tubo de fondo plano. Agréguese 6 gotas de aldehído fórmico, agítese y déjese reposar durante 5 minutos. En seguida - agréguese con cuidado 1 ml. de la solución de nitrato de cobalto y agítese bien.

Agréguese con cuidado 2 ml. de alcohol isopropílico, procurando que éste se deslice por las paredes del tubo y forme una capa sobre la superficie de la solución. Después de haberse agregado el alcohol isopropílico a to-

dos los tubos que contienen extracto de suelo, así como a los que contienen las diferentes diluciones de solución calibrada de potasio, agítense el contenido de cada tubo 30 segundos, mediante un movimiento giratorio recíproco entre las dos manos.

Después de 25 minutos se hace la comparación de la turbidez de cada incógnita, con aquella de las diferentes diluciones de solución calibrada de potasio que se han preparado simultáneamente en forma semejante empleando para esto el bloque comparador y comparándose la turbidez mediante observaciones hechas a lo largo del eje del tubo.

Nota importante.- La temperatura del medio ambiente deberá ser entre los 21 y 29°C, siendo 25°C el óptimo para ésta prueba. Si la temperatura sobrepasa a los 29°C éste mé todo resultados erróneos.

Las siguientes diluciones de la solución calibrada de potasio son de empleo conveniente para las comparaciones turbidimétricas de los extractores de suelo.

Solución calibrada de Potasio (K).ml.	ml. de solución extractora.	p.p.m. de K.	kg/ de K - p.p.m. X - 14 (1).
0.00	2.00	0	0
0.25	1.75	5	70
0.50	1.50	10	140
0.75	1.25	15	210
1.00	1.00	20	280
1.25	0.75	25	350
1.50	0.50	30	420

DETERMINACION DE CALCIO Y MAGNESIO POR TITULACION  
CON ETILEN-DIAMINO-TETRA ACETATO. (31)

A. Principio.

La mayor cantidad de calcio nativo en el suelo se encuentra asociado a feldespatos, piroxenos, anfibolea, micas y minerales arcillosos. Además los suelos contienen otros minerales cálcicos. Carbonatos de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) - y/o magnesio ( $\text{CaCO}_3$  .  $\text{MgCO}_3$ , dolomita) nativos se pueden encontrar en suelos jóvenes derivados de calizas. Sulfato de calcio (anhidrita) se acumulan con frecuencia en la superficie de los suelos áridos y semiáridos. Fosfatos de calcio, contribuyen en el contenido de calcio del suelo - ligeramente. Una proporción de calcio-magnesio de 40 se - considera apropiada, valores más altos indican una acumulación de Ca mientras que los bajos indican una predomi- nancia de Mg. La saturación con Ca aumenta con el pH.

B. Reactivos.

- a. Solución amortiguadora de cloruro de amonio e hidróxido de amonio. Se disuelven 67.5 g de cloruro de amonio en 570 ml. de hidróxido de amonio concentrado y se diluyen a un litro.
- b. Hidróxido de sodio aproximadamente 4 N, se disuelven - 160 g. de hidróxido de sodio en un litro de agua.
- c. Solución estandar 0.01 N de cloruro de calcio, se disuelven 0.500 gr. de carbonato de calcio puro en 10 ml. de ácido clorhídrico aproximadamente 3 N y se diluye - a exactamente 1 litro.
- d. Indicador Eriocromo negro T. se disuelven 0.5 gr. de Eriocromo negro T y 45 g del hidrocloreuro de hidroxilamina en 100 ml. de etanol al 95%. Este indicador puede conseguirse bajo diferentes nombres comerciales.
- e. Indicador de purpurato de amonio. Se mezclan perfectamente 0.5 g. de purpurato de amonio con 100 g de sulfato de potasio en polvo.
- f. Etilen-diamino-tetraacetato (Versenato) en solución - aproximadamente 0.01 N. Se disuelven 2 gr. de sal sódica del etilendiamino-tetraacético y 0.05 g de cloruro de magnesio con 6 moléculas de agua de cristalización, en agua y se diluye a 1 litro. Se estandariza la solu-

ción contra la solución C utilizando el procedimiento de titulación que se indica posteriormente. La solución se estandariza usando cada uno de los indicadores D y E ya que la normalidad con E es de 3 a 5% mayor que con D.

### C. Procedimiento.

Tratamiento previo a los Extractos del Suelo. - Cuando el acetato de amonio y la materia orgánica dispersa se encuentran en cantidades considerables, deben eliminarse casi por completo del extracto del suelo antes de titular con Versenato. En general, la evaporación a sequedad y tratamiento con agua regia (3 partes de ácido clorhídrico y 1 de ácido nítrico concentrado) y un segundo secado, son suficientes para eliminar el acetato de amonio y la materia orgánica. Los extractos del suelo con coloración muy oscura pueden requerir otro tratamiento con agua regia. En seguida se disuelve el residuo en una cantidad de agua igual a la muestra original de extracto tomada para tratamiento.

Calcio.- Se coloca un alícuota que no contenga más de 0.1 m.e. de calcio en un matraz erlenmeyer de 125 ml. Se diluye a un volumen aproximado de 25 ml. Se agrega 0.25ml. (5 gotas) del reactivo b y aproximadamente 50 mg del e y se titula con f usando una microbureta de 10 ml.

El cambio de color es de rojo - naranja a púrpura. Cuando se está próximo al cambio de vire, se debe agregar una gota del reactivo f cada 5 a 10 segundos, ya que el cambio del color no es instantáneo. Un testigo que contenga b y e y una gota ó dos de f es una buena referencia para observar el punto de vire. Si se excede la titulación con f se puede retitular con c.

Calcio y Magnesio.- Se toma una alícuota de 5 a 25 ml. que no contenga más de 0.1 m.e. de ambos (Ca + Mg) y se coloca en un matraz erlenmeyer de 125 ml. diluyendo a un volumen aproximado de 25 ml. Se agrega 0.5 ml. (10 gotas) del reactivo a y 3 ó 4 gotas de d y se titula con f usando una microbureta de 10 ml. El cambio de color es de rojo vino a azul ó verde. No debe observarse tinte rojizo al llegar al punto terminal.

#### D. Cálculos.

m.e. por litro de Ca o (Ca + Mg) = (ml. de solución de versenato X Normalidad de la solución del versenato X 1,000)/ml. de alícuota.

#### Capacidad de Intercambio Catiónico Total. (26)

A. Método del Acetato de Amonio a pH neutro.

(Schollenberger).

#### Principio

Este método se basa en que los cationes que se-

encuentran presentes en el suelo, van a ser substituidos por el amonio mediante la solución de acetato de amonio - con que se lava el suelo inicialmente, posteriormente, - durante la destilación estos cationes van a ser recibidos en un matraz que contiene ácido bórico al 4% con la solución indicadora (rojo de metilo-azul de metileno al 1%), - observándose el vire de dicho indicador en el momento en que empieza destilarse el amonio de un color violeta a - un color verde, indicando que se forma el borato de amonio el cual posteriormente va a ser titulado mediante el HCl 1N. (titulación ácido-base) obteniendo de ésta manera la cantidad de amonio presente y por lo tanto la capacidad de intercambio cationico total.

#### Material -

Matraces erlenmeyer 500 ml.  
 Embudo Buchner  
 Matraces de Destilación Kjeldahl  
 Vasos de precipitados 300 ml  
 Bureta de 25 ml.  
 Probeta de 100 ml.

#### Reactivos -

Acetato de Amonio pH 7 .... 250 ml.  
 Alcohol etílico anhidro ... 150 ml.  
 NaCl R.A. .... 10 g.



Parafina histológica	....	5 g.
NaOH 4%	....	25 ml.
Ac. Bórico 4%	....	50 ml.
Granalla de Zn R.A. malla. 10	....	0.5 g.
Indicador rojo de me- tilo azul de metileno.	....	6 gotas
Agua destilada	....	400 ml.
ACl valorado 1N	....	cantidad necesaria.

### Metodología.

- a. Se pesan 10 g. del suelo cernido y seco en una balanza analítica y se depositan en un embudo buchner.
- b. Se adiciona lentamente al suelo 250 ml. de acetato de amonio (la filtración debe durar más de 1 hr) y al final de la filtración se extrae el exceso de acetato de amonio mediante vacío lento.
- c. Se procede a eliminar los últimos residuos de acetato de amonio con 150 ml. de alcohol etílico, lavando en la misma forma que con la solución de acetato de amonio, quedando unicamente los cationes que se intercambiaron, el exceso de alcohol se elimina con vacío, posteriormente se recoge el suelo y junto con el papel filtro se pasa a un matraz de destilación Kjeldahl.

- d. Una vez en el matraz Kjeldahl se adiciona 10 g. de NaCl y 5 g. de parafina (antiespumante).
- e. Se adicionan 400 ml. de agua destilada, 25 ml de NaOH al 4%, 0.5 g de granalla de Zn.
- f. Se procede a destilar la mezcla recibiendo el destilado a un matraz erlenmeyer de 500 ml. con 50 ml. de ácido bórico al 4% con 6 gotas de indicador de rojo de metilo-azul de metileno al 1% en peso en solución alcohólica.
- g. Se titula el destilado con HCl 1N.

#### Calculos.

$$\text{C.I.C.T. meq } 100 \text{ g. de suelo} = \frac{\text{ml. de HCl X N}}{\text{peso de la muestra}}$$

### C. METODOS MICROBIOLOGICOS

Para el análisis microbiológico de las muestras de suelo, roca, y corteza del tronco de los árboles, recolectado según el inciso (A), se siguieron las metodologías que se describen a continuación:

#### Descripción del Diagrama del Método de Diluciones de Suelo. (9)

- a. Pesar 10 g. de suelo problema y agregarlo a un matraz-

que contiene 95 ml. de agua destilada estéril, agitar vigorosamente durante 5 min. La dilución de suelo será entonces de 1:10 ó  $10^{-1}$ .

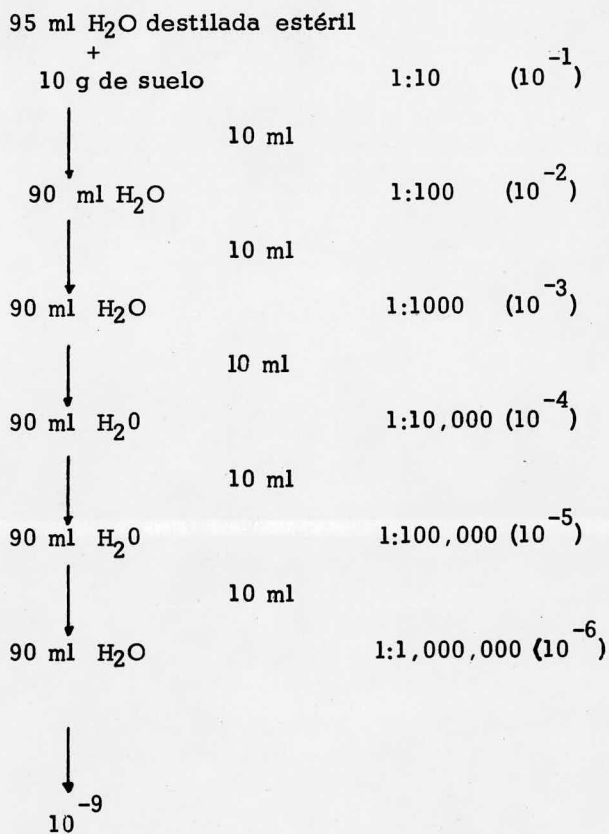
- b. Dejar en reposo el matraz para que las partículas gruesas de suelo sedimenten (15 seg.). Con una pipeta estéril tomar 10 ml. de esta dilución y pasarlos a un matraz que contiene 90 ml. de agua destilada estéril, agitar durante un minuto la dilución será entonces de 1:100 ó  $10^{-2}$ . A partir de ésta dilución se preparan las siguientes, siguiendo la misma técnica de acuerdo al Diagrama del Método de Diluciones del Suelo, que se observa en la siguiente hoja.

#### Cuantificación del Número de Bacterias en Medio Sólido.

Para determinar el número de bacterias por gramo de suelo seco, se va a multiplicar la media aritmética del número de colonias por caja, por el factor de dilución y se divide entre el peso de un gramo de suelo secado a 105°C de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$\text{Bacterias por gramo de Suelo Seco} = \frac{\text{Med. arit. del No. de Col. X dil.}}{\text{Peso seco de 1 g. de suelo}}$$

DIAGRAMA DEL METODO DE DILUCIONES DEL SUELO.



\* CUANTIFICACION DE MICROORGANISMOS: AMONIFICANTES  
NITRIFICANTES Y DESNITRIFICANTES. (9)

A. PRINCIPIOS

Las bacterias del suelo que llevan a cabo la oxidación de Amoniaco a Nitritos y de Nitritos a Nitratos son quimioautotróficas, esto nos indica que son capaces de utilizar un material inorgánico como su única fuente de Carbono.

Aparentemente la elección de un medio de cultivo para un quimioautotrófico parece no ser difícil, esto es en base a que solamente la fuente de energía específica está disponible, entonces solo los quimioautotróficos capaces de usar la oxidación de éste material para sus fines de síntesis celular crecerán. Esta suposición es válida solo para los medios que tienen una fuente de energía no orgánica.

Esto no quiere decir que los heterótrofos carecen de los enriquecimientos ya que el suelo utilizado inicialmente como inoculante es acarreador de numerosos organismos.

\* Para enumerar las bacterias Nitrificantes y separarlas de otros organismos del suelo, son aprovechadas sus propiedades quimioautotróficas.

En el caso de las Nitrosomonas el medio que con

tiene Amoníaco como fuente de Nitrógeno, es inoculado con diluciones del suelo, en el caso de que las Nitrosomonas estén presentes en forma adecuada llevaran a cabo la oxidación de Amonio a Nitritos; por lo tanto si es una prueba positiva para Nitritos en el medio inoculado pero negativa para los testigos. va a indicar la presencia de Nitrosomonas. Sin embargo una prueba negativa para Nitrito no indica necesariamente la ausencia de Nitrosomonas, sino - que es posible que tanto la bacteria Nitrito oxidante como la Amonio oxidante estuviesen presentes en el inóculo y que durante la incubación el Nitrito formado fuese oxidado a Nitrato por la acción del grupo Nitrobacter.

Una prueba positiva para Nitritos y Nitratos en los tubos inoculados y una prueba negativa en los tubos - testigos no inoculado indicaría la presencia de Nitrosomonas.

Sin embargo la evidente producción de Nitritos y la falta de producción de Nitratos no es suficiente --- prueba para decir que realmente se ha obtenido un cultivo puro de Nitrosomonas. Es necesario realizar pruebas adicionales para demostrar la ausencia de otros microorganismos.

Para aislar y cuantificar el grupo Nitrobacter-

en el inóculo se determina por la prueba negativa para -- Nitrito en el inóculo y positiva en los controles ésto después de la incubación y en base a que el Nitrito ha sido oxidado a Nitrato.

b. MEDIOS DE CULTIVO

Reactivos.

NITRIFICANTES

Solución de los Micronutrientes.

MnSO <sub>4</sub> .	H <sub>2</sub> O . . . .	0.554 g.
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	. . . .	0.63 g.
CaSO <sub>4</sub> .	5H <sub>2</sub> O . . . .	0.33 g.
ZnSO <sub>4</sub> .	7H <sub>2</sub> O . . . .	0.343 g.
Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .	6H <sub>2</sub> O . . . .	0.356 g.
H <sub>2</sub> O destilada	. . . .	1000 ml.

## Nitrosomonas sp.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .....	0.66 g	$\text{NaNO}_2$ .....	0.5 g.
$\text{NaCl}$ .....	0.3 g.	$\text{NaCl}$ .....	0.3 g.
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	0.14 g.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.14 g.
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	0.03 g.	$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.03 g.
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....	0.1 g.	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....	0.1 g.
1 ml. de solución de micronutrientos		Agua dest.	1000 ml.
Agua destilada	1000 ml.	1 ml. de solución de micronutrientos.	
pH = 7		pH = 7	

Una vez disueltas una a una las sales en el agua destilada, si es necesario se filtra el medio y posteriormente se adicionan 10 gr. de Carbonato de Calcio, - se ajusta el pH a 7, esto es en ambos medios.

Se esterilizan ambos medios en autoclave 20 min.  
a 15 atm.

## AMONIFICANTES

$\text{K}_2\text{HPO}_4$ .....	3 g.
$\text{KCl}$ .....	0.2 g.
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ..	0.2 g.
$\text{NaCl}$ .....	0.2 g.
$\text{CuSO}_4$ .....	0.01 g.
Gelatina .....	0.10 g.
$\text{H}_2\text{O}$ dest. ...	1000 ml.



La gelatina se disuelve y se hierve por 5 min., se adicionan las sales disueltas y se filtra hasta la completa transparencia. ajustar pH a 7.

Se esteriliza por autoclave 20 min. 15 atm.

### C. Metodología.

- a. Se colecta y se trata la muestra de suelo forestal - como se indico inicialmente, posteriormente se preparan las diluciones de acuerdo al Diagrama del Método - de Diluciones mencionado con anterioridad.
- b. En tubos estériles se adicionan 10 ml. de cada medio - de cultivo la cantidad de tubos va a depender de las - diluciones que se empleen.
- c. A partir de la dilución mayor, se va a transferir una - alícuota de 1 ml. a cada uno de los 5 tubos que contie - nen el medio de cultivo. Posteriormente de hace una se - rie similar de inoculaciones utilizando las siguientes diluciones consecutivas y más bajas.
- d. Para Amonificantes se incularon las diluciones  $10^2 - 10^7$ .  
Para Nitrificantes se incularon las diluciones  $10^1 - 10^7$ .
- e. Incubar;                   Amonificantes       28°C   durante 15 días.  
                                  Nitrificantes       28°C   durante 28 días.

D. Lecturas de los Resultados.

Al final de los períodos de incubación, la determinación de la presencia de Amonio se realiza mediante el Reactivo de Nessler y la presencia de Nitritos y Nitratos mediante el Reactivo de Griess-Ilosway, cuya preparación se menciona en seguida.

Reactivo de Nessler.

HgI <sub>2</sub> ... 45.5g.	Preparación.- Disolver 45.5g de
KI ... 35 g.	HgI <sub>2</sub> y 35g. de KI en un mínimo -
KOH ... 112 gr.	de agua destilada, pasar la solu
Agua dest. 1000 ml.	ción a un matraz aforado de - -
	100 ml. Agregar 112 gr. de KOH -
	y llevar a un volumen de 800 ml.
	Mezclar bien la solución y dejar enfriar para diluir a -
	1 litro.

Técnica.

Se colocaron tres gotas de cada medio de cultivo inoculado en tubos de diálisis y se adicionan dos gotas del Reactivo de Nessler. Se considera la prueba positiva por la presencia de una coloración amarillo huevo, y como prueba negativa una coloración amarillo transparente debida al color propio del reactivo. La interpretación numérica es realizada mediante las Tablas del Número Más-Probable para poblaciones microbiológicas.

Reactivo de Griess- Ilosway.

Ac. Sulfanílico ..... 0.6 g.  
 HCl ..... 20 ml.  
 -Naftilamina ..... 0.6 g.  
 $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ..... 16.4 g.  
 Zn-Cu-MnO<sub>2</sub>

Preparación.-

a. Disuelva exactamente 0.6 g de Ac. Sulfanílico en 70 ml. de agua caliente destilada, adicione 20 ml. de HCl concentrado y diluya a 100 ml. con agua, mezclese bien.

b. Disuelva exactamente 0.6 g de  $\alpha$ -Naftilamina en 10 a 20 ml. de agua conteniendo 1 ml. de HCl conc. y diluya la solución a 100 ml. con agua destilada.

c. Disuelva 16.4 g de  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en agua destilada y diluya la solución a 100 ml. con agua destilada.

Almacene las soluciones separadamente en botellas oscuras y en refrigeración.

Zn-Cu-MnO<sub>2</sub> mezcle juntamente 1g. de Zn en polvo, 1 g. de MnO<sub>2</sub> y 0.1 g. de Cu en polvo.

Técnica.

Nitrosomonas.- Después de la incubación se hace una prueba a cada uno de los tubos para determinar la presencia de Nitritos empleando el reactivo de Griess-Ilosway. Inmediatamente antes de la prueba mezcle simultáneamente y en partes iguales las tres soluciones (Ac. Sul

fanílico,  $\alpha$ -Naftilamina, Acetato de Sodio), entonces se van a adicionar tres gotas de ésta mezcla a los cultivos que van a ser probados.

Observe el contenido de cada tubo, notando, el desarrollo de un color rojo-púrpura, ya sea en pocos minutos o instantaneamente, ésto es indicativo de la presencia de Nitritos, estos tubos son registrados como positivos. A todos los tubos que fueron negativos en la prueba para Nitritos, pruébelos para Nitratos adicionando una pizca de la mezcla Zn-Cu-MnO, si se desarrolla un color rojizo márkuelos como positivos para Nitrosomonas, en base a que la prueba inicialmente registrada como negativa para nitritos significa solamente que los Nitritos formados fueron oxidados a Nitratos por Nitrobacter sp.

Una prueba positiva por Nitritos y Nitratos en los tubos control indica contaminación. Posteriormente se aplica el Método del Número más Probable para Población Microbiana.

Nitrobacter. Posteriormente a la incubación, la prueba se realiza solamente para Nitritos empleando el Reactivo de Griess-Ilosway. Se marcan los tubos en forma positiva para Nitratos si el medio no presenta el color rojo-púrpura característico de Nitrosomonas o como negativo para Nitrato si se presenta un color rojizo.

Finalmente para determinar el número de Nitrobacter se emplea el Método del Número más Probable.

## CUANTIFICACION DE MICROORGANISMOS DESNITRIFICANTES (9)

### A. PRINCIPIOS

En el proceso de la Desnitrificación, se va a llevar a cabo la desaparición tanto de el aceptor terminal de electrones que puede ser tanto el Nitrito como el Nitrato, como la fuente energética.

Conforme las bacterias van desarrollandose y el pH se va elevando, el color de la solución el cual inicialmente es verde va virando a un color azul intenso y al mismo tiempo se van desprendiendo grandes cantidades de Nitrógeno gaseoso.

La prueba cualitativa se basa en el aumento de alcalinidad, lo cual está asociado con la propia reacción de Desnitrificación y con la formación de productos gaseosos.

B. MEDIO DE CULTIVO

Reactivos.

Solución A.

$\text{KNO}_3$  ..... 1.0 g

Asparagina 1.0 g

Sol. Alcohólica de

Azul de Bromotimol.

0.5 %        5.0 ml.

Agua destilada 500 ml.

Solución B.

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  ..... 1.0 g.

$\text{MgSO}_4$  ..... 1.0 g.

$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  o.2 g.

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  o.2 g.

Agua dest.. 500 ml.

Mezclar ambas soluciones y ajustar el pH a 7. Esterilizar por autoclave 20. min. a 15 lb.

C. METODOLOGIA

a. Se colecta y se trata la muestra de suelo forestal como se indico inicialmente, posteriormente se preparan las diluciones de acuerdo al Diagrama Del Método De -- Diluciones mencionado y explicado con anterioridad.

b. En los tubos de cultivo estériles se adicionan 10 ml. del medio de cultivo ya esterilizado y comprobada su esterilidad, la cantidad de tubos a emplear van a ser 5 tubos por cada dilución y ésto por las tres muestras de tierra ( suelo, árbol, roca ).

nota: en el interior de los tubos de cultivo se coloca un tubo de Diálisis invertido con el objeto de poder observar la producción gaseosa.

c. A partir de la dilución mayor, se transfiere una alícuota de 1 ml. a cada uno de los 5 tubos que contienen el medio de cultivo. Posteriormente se llevan a cabo una serie similar de inoculaciones empleando las siguientes diluciones consecutivas y más bajas.

d. Inoculación: Desde la dilución  $10^1$  hasta la dil.  $10^7$

e. Incubación. Desnitrificantes 28 C durante 7 días.

Se observa diariamente la acción gaseosa y la transformación del color verde al azul intenso.

#### D. LECTURA DE LOS RESULTADOS.

Al final del periodo de incubación, se lleva a cabo la observación de estos tubos y se marcan como positivos a aquellos que presentan una coloración azul intensa y una formación vigorosa de gas.

Posteriormente la cuantificación de las bacterias Desnitrificantes se realiza por medio del Método Del Número Más Probable Para Poblaciones Bacterianas.

#### CUANTIFICACION DE LAS BACTERIAS DEL CICLO DEL NITROGENO(9)

##### A. PRINCIPIO

El medio de cultivo que se emplea para el desarrollo de *Azotobacter* sp. se basa en la habilidad que presenta para crecer en substratos los cuales son ricos en -

Carbohidratos y que no conengan Nitrógeno. En base a que Azotobacter es capaz de emplear el Nitrógeno atmosférico— ésta deficiencia de Nitrógeno en el medio de cultivo no va a restringir su crecimiento, pero si va a ser restringi— ble para el crecimiento de bacterias heterotróficas que — no tienen la capacidad de emplear el Nitrógeno atmosfe— rico.

El hecho de que las colonias de Azotobacter se— desarrollan rápidamente y presentan determinadas caracte— rísticas va a facilitar la detección de éste grupo de bac— terias, en el suelo.

#### B. MEDIO DE CULTIVO.

LIPMAN L- G PARA A zotobacter sp.

Reactivos.

$K_2HPO$	.....	0.1 g.
$KH_2PO_4$	.....	0.4 g.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	.....	0.2 g.
$CaCl_2$	.....	0.02 g.
$NaMoO_4 \cdot H_2O$	.....	0.002 g.
$FeCl_2$	.....	0.01 g.
Sacarosa	.....	10 gr.
$CaCO_3$	.....	1.0 g.
Agar	.....	20 g.
Sol. Alcohólica de		
azul de bromotimol		al



0.5 % ..... 5 ml.

Agua dest.. 1000 ml.

Las sales se disuelven una a una en el agua destilada, se mezclan perfectamente bien y se ajusta el pH - a 6.7-6.8.

El medio de cultivo se esteriliza en autoclave - a 15 lb. durante 20 min.

### C METODOLOGIA.

- a. Se colecta y se trata la muestra de suelo forestal como se indicó inicialmente, posteriormente se preparan las diluciones de acuerdo al Diagrama Del Método De -- Diluciones mencionado con anterioridad.
- b. A partir de la dilución mayor se transfiere una alícuo ta de 1 ml. a cada una de las tres cajas de petri. La cantidad de cajas de petri empleadas son tres para cada dilución y éstopor las tres muestras de suelo.
- c. Posteriormente se adiciona 10 ml. del medio de cultivo a cada una de estas cajas que ya contienen el inóculo - y se agitan a forma giratoria. El medio fundido debe - de encontrarse a una temperatura aproximada de 35°C. - Una vez sólido, se invierten las cajas.
- d. Inoculación: Desde la dilución lo.<sup>1</sup> hasta la dilu - - ción lo.<sup>7</sup>.

e. Incubación. Azotobacter sp. a 28°C durante 7-8 días.

D. LECTURA DE LOS RESULTADOS.

Al final del período de incubación Se hace el recuento de las colonias de Azotobacter sp. tomando en consideración las características morfológicas de dicho grupo bacteriano.

Sus colonias se caracterizan por ser convexas, suaves, mucoides, semejan a una gota de agua, brillantes.

Posteriormente se hacen observaciones microscópicas de las colonias desarrolladas, empleando para ello la Tinción de Gram y de coloración negativa para las cápsulas.

La cuantificación es por la siguiente fórmula:

$$\text{Bacterias por gramo de suelo} = \frac{\text{Media aritmética del No. de col} \times \text{factor de dil.}}{\text{Peso seco 1 gr. de suelo}}$$

CUANTIFICACION DE HONGOS (9)

A. PRINCIPIO. (15) (28)

En la cuantificación de los hongos uno de los problemas grandes que se presenta, es la contaminación por bacterias, ya que estas son mucho más numerosas que los hongos. Por ello es necesario emplear medios que

contengan un inhibidor de bacterias y de esta forma se -- suprime selectivamente su crecimiento.

Usualmente se emplean los siguientes inhibido-- res bacterianos: el propionato de sodio, el rosa de bengala, ciertos antibióticos ó sencillamente se acidifica el medio de cultivo a un pH aproximado de 4.5 en el cual es posible que se desarrollen los hongos y no así las bacterias.

Al no utilizarse cualquiera de estos métodos se pueden presentar complicaciones del tipo siguiente, ya sea que se disimulen las colonias de los hongos ó bien -- que se inhiban por la presencia de colonias bacterianas.

Mediante el tratamiento por antibióticos y -- acidificación se va a impedir el desarrollo de la mayoría de los Estreptomicetos así como de las bacterias.

#### B. MEDIO DE CULTIVO.

Reactivos.

Glucosa	.....	10 g.
Peptona	.....	5 g.
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	.....	1.0 g.
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	..	0.5 g.
Rosa de Bengala		
	.....	0.033 gr

de Rosa de Bengala por  
1000 ml. de agua dest.  
Agar . . . . . 20 g.  
Estreptomycin 30 micro  
gramos por ml.  
Agua dest. . . . . 1000 ml.

Disuelva los ingredientes en el agua con ebullición lenta, posteriormente esterilize el medio en autoclave a 15 lb. de presión durante 15 min.

Prepare y esterilize la solución de Estreptomycin como se ha iniciado en el parrafo precedente y añada la solución al agar disuelto y enfriado, justamente -- antes de usarlo en el vaciado de las cajas, en una cantidad de 30 microgramos de estreptomycin por ml. Mezcle -- completamente la solución de estreptomycin con el agar -- meneando el recipiente.

### C METODOLOGIA.

- a. Se trata y se colecta la muestra de suelo forestal como fué indicado inicialmente, posteriormente se preparan las diluciones del suelo de acuerdo al Diagrama -- del Método de Diluciones, que fué mencionado con anterioridad.
- b. A partir de la dilución mayor preparada se va a transferir 1 ml. de inóculo a cada una de las 3 cajas de --

petri.- La inoculación en éste caso va a ser por triplicado, es decir 3 caja para cada dilución y éste por las tres muestras de tierra ( suelo árbol y roca )

c. Posteriormente se van a adicionar 10 ml. del medio de cultivo estéril a cada una de las cajas que contienen el inóculo y se da un movimiento rotatorio con el objeto de que la siembra sea uniforme, luego de que el agar se ha solidificado invierta las cajas.

d. Inoculación Hongos desde la dil.  $10^3$  hasta la dil.  $10^6$

e. Incubación.  $28^{\circ}\text{C}$  durante 7 días.

#### D. LECTURA DE LOS RESULTADOS

Posteriormente a la incubación, se hace el recuento de las colonias de hongos, para lo cual se utiliza un cuenta colonias para facilitar la cuantificación.

Como las colonias de bacterias y Actinomicetos no están invariablemente ausentes, se incluye en el conteo solamente aquellas colonias que sean típicamente algodonosas o filamentosas ó aquellas reconocidas como producidas por hongos y no por bacterias. Se calcula el número de hongos/gr. de suelo seco de la misma forma que con las bacterias, utilizando la fórmula antes explicada.

## METODO (II)

CUANTIFICACION DE LAS BACTERIAS CELULOLITICAS (16)A PRINCIPIO.(35) (2)

El método para llevar a cabo la cuantificación de estos microorganismos está basado en la actividad que presentan dichos microorganismos para hidrolizar la celulosa. Para ello se adiciona al medio de cultivo con el inóculo, una tira de papel filtro y mantener las condiciones adecuadas.

Estos organismos secretan dos enzimas: la celulosa y la celobiasa; la primera transforma a la celulosa en celobiosa y la segunda a ésta en glucosa.

La cantidad de celulosa hidrolizada va a depender de la cantidad de Nitrógeno aprovechable que existe en el suelo pues dicha hidrólisis se acompaña casi siempre de la asimilación de apreciables cantidades de Nitrógeno por parte de los microorganismos que atacan la celulosa.

La aplicación de N inorg. incrementa el rompimiento de la celulosa del suelo y tanto las sales de amonio como de nitrato sirven como fuentes adecuadas.

B MEDIO DE CULTIVO.

## REACTIVOS

## CELULOLITICOS

$K_2HPO_4$	.....	1.0 g.
$NaNO_3$	.....	0.5 g.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	.....	0.5 g.
KCl	.....	0.5 g.
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	.....	0.01 g.
Agua dest...		1000 ml.
pH =		7.5

Colocar 9 ml. del medio en cada tubo de cultivo colocar dentro de cada tubo una tira de papel filtro de - 1 cm. de ancho por 9 cm. de largo.

Se tapan y se esterilizan a 15 lb. durante 20 - min.

C METODOLOGIA

- a. Se colecta y se trata la muestra como se especificó -- inicialmente y posteriormente se preparan las diluciones de acuerdo al Diagrama del Método de Diluciones - mencionado con anterioridad.
- b. A partir de la dilución mayor preparada, se va a transferir una alícuota de 1 ml. a cada uno de los 5 tubos-

que contienen el medio de cultivo. La cantidad de tubos empleados son 5 para cada dilución y éste por las tres muestras de tierra ( suelo, árbol y roca ).

Se agitan cuidadosamente.

Durante el período de incubación, se deben agitar cuidadosamente los tubos una vez a la semana por lo menos.

c. Inoculación. Celulolíticos desde la dil.  $10^1$  -  $10^7$

d. Incubación. a  $28^{\circ}\text{C}$  durante 30 días.

#### D LECTURA DE LOS RESULTADOS.

Al finalizar el período de incubación, para -- hacer la lectura, se agita cada tubo y se anotan las que salieron positivos; que se reconocen por que el papel -- filtro se desintegra ó se parte a la mitad.

Posteriormente la cuantificación es por medio -- del Método del Número más Probable para Poblaciones Bacte -- rianas.



I V. R E S U L T A D O S.A. Vegetación encontrada en los sitios de muestreo.

SITIO No. 1

Arboles

- a. Oyamel ( Abies religiosa ) formando un bosque

Plantas Herbáceas

- a. Senecio anguifolius. Planta mediana  
b. Ecpaterium sp.

SITIO No. 2

Plantas Herbáceas

- a. Fam Compositae.

N.C. Graphaliumaff. exyphyllum D.C.

- b. Fam. Rosaceae.

N.C. Potentillaaff. candicans H et B.

- c. Fam. Compositae.

N.C. Graphaliumaff. purpureum L

- d. Fam. Gentianaceae.

N.C. Gentiana amarellavar. acuta Meek

e. Fam Gramineae.

N.C. Mukelbergia macrevia ( M.B.K. ) Mitch

f. Fam. Gramineae

N.C. Trisetum aff. spicatum (L) K.Ritch

g. Fam. Gramineae

N.C. Stipa icju ( R. et P. ) Kunth

SITIO No. 3

Plantas Herbáceas

a. Fam. Gramineae.

N.C. Trisetum aff. spicatum (L) K.Ritch

b. Fam. Gramineae.

N.C. Muklenbergia macreura M.B.K. Mitch

c. Fam. Gentianaceas.

N.C. Gentiana amarella var. acuta Meck

d. Fam. Compositae.

N.C. Graphalium aff. purpureum L

Arboles

a. Género Pinus.

b. Posiblemente sea Pinus teocete, no se puede asegurar -  
sin ver el fruto ó cono.

SITIO No. 4

Arboles

b. Oyamel ( abies religiosa )

Plantas Herbáceas

a. N.C. Trisetum

aff. spicatum (L) K.Ritch

b. N.C. Graphalium

aff. purpureum L

c. N.C. Gentiana amarella

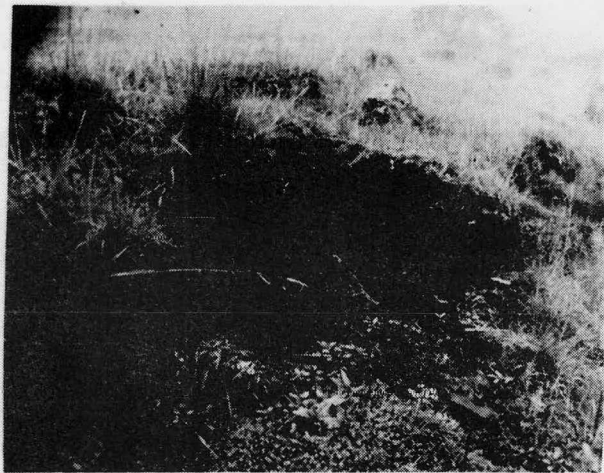
var. acuta Hook

d. N.C. Potentilla

aff. candicans H et B



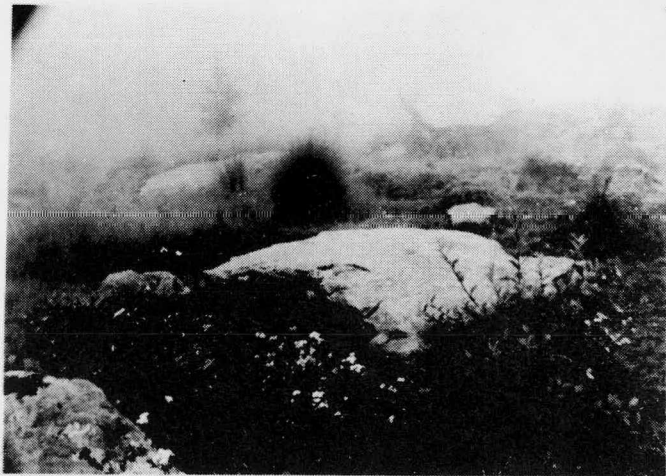
SITIO No. 2



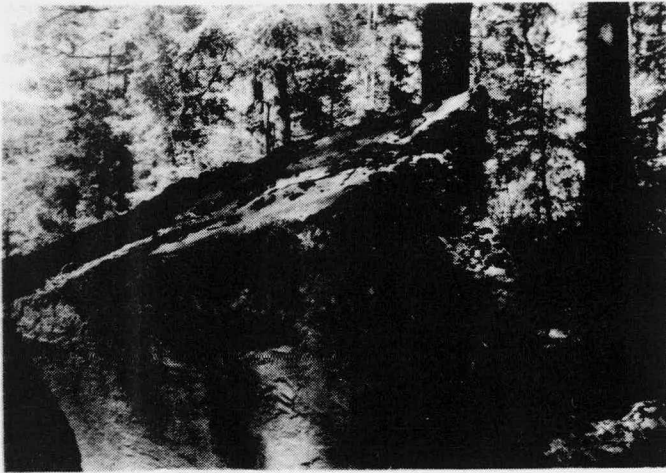
" Suelo "



" Suelo y Roca "



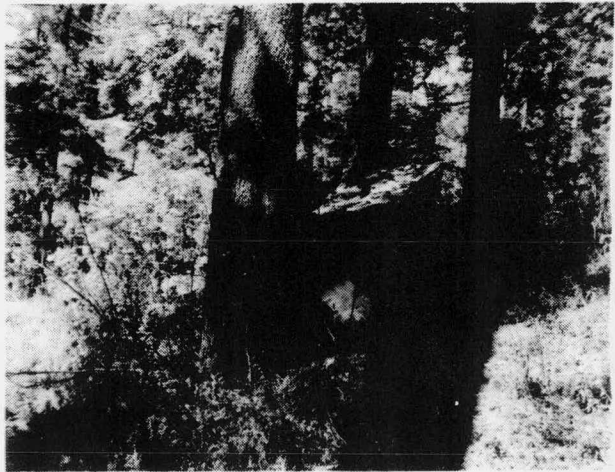
" Roca "



" Roca "



" Arboles "



" Suelo, Roca y Arbol "



" Arboles "



" Suelo "



" Arboles y Suelo "

## T A B L A No. 1

## CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS

## DE LOS SUELOS

SUELOS No.	PROFUNDIDAD cm	ALTURA metros sobre nivel del mar.	P H	COLOR		ARENA %	ARCILLA %	LIMO %	CLASIFICACION textural	HUMEDAD %
				seco	humedo					
1	0 - 20	3270	5.0	10 y R 2/1 gris muy oscuro	75 y R 2/0 negro	72.26	8.74	16	Migajon arenoso	35.1
2	0 - 20	3270	5.8	10 y R 4/2 cafe gri- saceo obs curo.	10 y R 2/1 negro	88.20	2.6	9.20	Arena	16.3
3	0 - 20	3320	5.5	10 y R 5/2 cafe gri- saceo	10 y R 3/2 café gris muy obscu ro	77.60	11.8	10.6	Migajon arenoso	24.25
4	0 - 20	3200	5.3	10 y R 3/1 gris muy oscuro	10 y R 2/0 negro	76.20	5.8	18	Migajon arenoso	34.36



T A B L A No. 2

SITIO	MATERIA OR- GANICA (%)	NITROGENO TOTAL %	RELACION C/N	FOSFORO ppm.	Ca ó (CaMg) meq/ lt	POTASIO K (ppm)	CAPACIDAD DE INTERCAMBIO CATIONICO (meq/100 suelo)
1	27.6	0.84	19.05	4	25.6	18	15.12
2	10.35	0.33	18.19	2	12.3	15	18.71
3	28.98	0.43	39.08	4	21	20	39.95
4	36.22	0.54	38.90	3	17.2	25	31.21

T A B L A No. 3

## PERFIL DE LOS DATOS OBTENIDOS EN LOS 4 SITIOS

MICROORGANISMOS	Sitio No. 1		Sitio No. 2		Sitio No. 3		Sitio No. 4		
	SUELO	CORTEZA DE ARBOLES.	ROCAS	SUELO	ROCA	SUELO	CORTEZA DE ARBOLES.	ROCAS	SUELO
CELULOLITICOS	277 millones	146 millones	5 millones	5,854	394	23,0237	11,469	269,393	197
AMONIFICANTES	2,615,384	no se detectaron.	3,384	64,516,129	274,729	innumerables			31,914,893
NITROSOMONAS	246,153	754	3,384	4,617,414	29,123	innumerables			531,914
NITROBACTER	215,384	12,000	16,923	418,160	2,150	innumerables			42,553,191
DESNITRIFICANTES	276,923	7,076	1,461	1,911,589	262,843	1,002	9	47	no se detectaron.
BEIJERINCKIA	innumerables	no se detectaron.	12,003	369,103	569,939	94,444	451,851	325,925	182,252
AZOTOBACTER	innumerables	9,924,002	no se detectaron	640,503	895,619	2,429,629	no se detectaron	1,474,074	1,709,401
HONGOS	3,601	335,794	11,883	54,574	no se -	518,511	333,333	466,666	50,276
COLOR EN SECO	gris muy obscuro		cafe grisáceo muy obscuro		cafe grisáceo		gris muy obscuro		
TEXTURA	Migajon arenoso		arena		Migajon arenoso		Migajon arenoso		
P H	5		5.8		5.5		5.3		
HUMEDAD	35.1 %		16.3 %		24.25 %		34.36 %		
MATERIA ORGANICA %	27.6		10.35		28.98		36.22		
N <sub>2</sub> TOTAL %	0.84		0.33		0.43		0.54		
REL C/N	19.05		18.19		39.08		38.90		
FOSFORO ppm	4		2		4		3		
POTASIO ppm	18		15		20		25		
CALCIO meq/100 gr	25.6 meq.lt.		12.3 meq.lt.		21 meq.lt.		17.2 meq.lt.		
CICT meq/100 gr.suelo	45.12		18.71		39.95		31.21		

En base a los resultados experimentales que se obtuvieron, se presentan las siguientes gráficas que nos van a proporcionar una idea general de la Distribución -- Microbiana en la zona de la Cañada de los Gavilanes, del-Ajusco, considerando para ello, los cuatro sitios de muestreo y los tres tipos de muestra: suelo, árbol y roca.

La simbología empleada es la siguiente:

S = material obtenido del suelo

A = material obtenido de la corteza de los árboles

R = material obtenido de la Roca

$\Delta$  = crecimiento masivo del microorganismo estudiado

\* = no se tomó la muestra por no existir roca ó árboles en ese sitio.

CELULOLITICOS

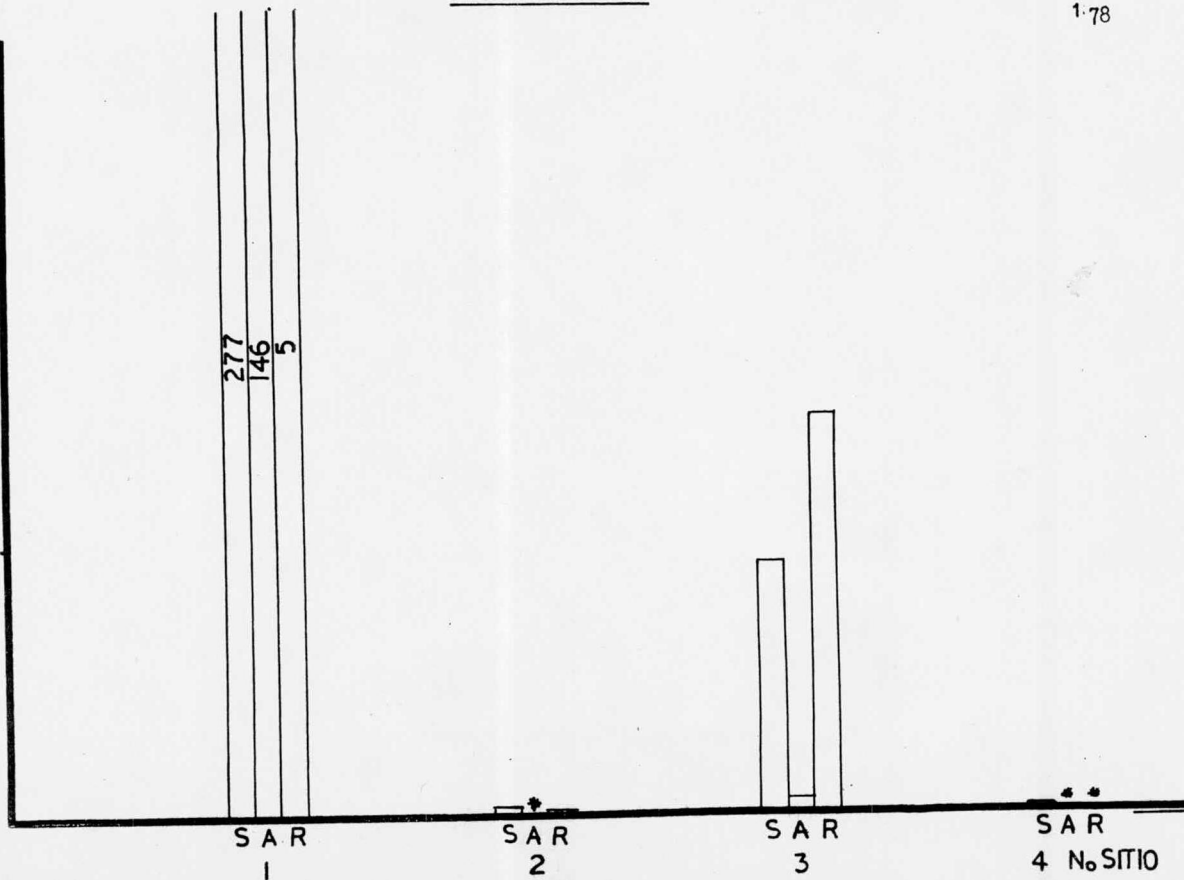
178

Nº BACT.  
g. suelo seco

millones

0.5

0.25



# NITROBACTER

No BACT.  
g. suelo seco  
millones

1.0

0.5

1.79

42.553

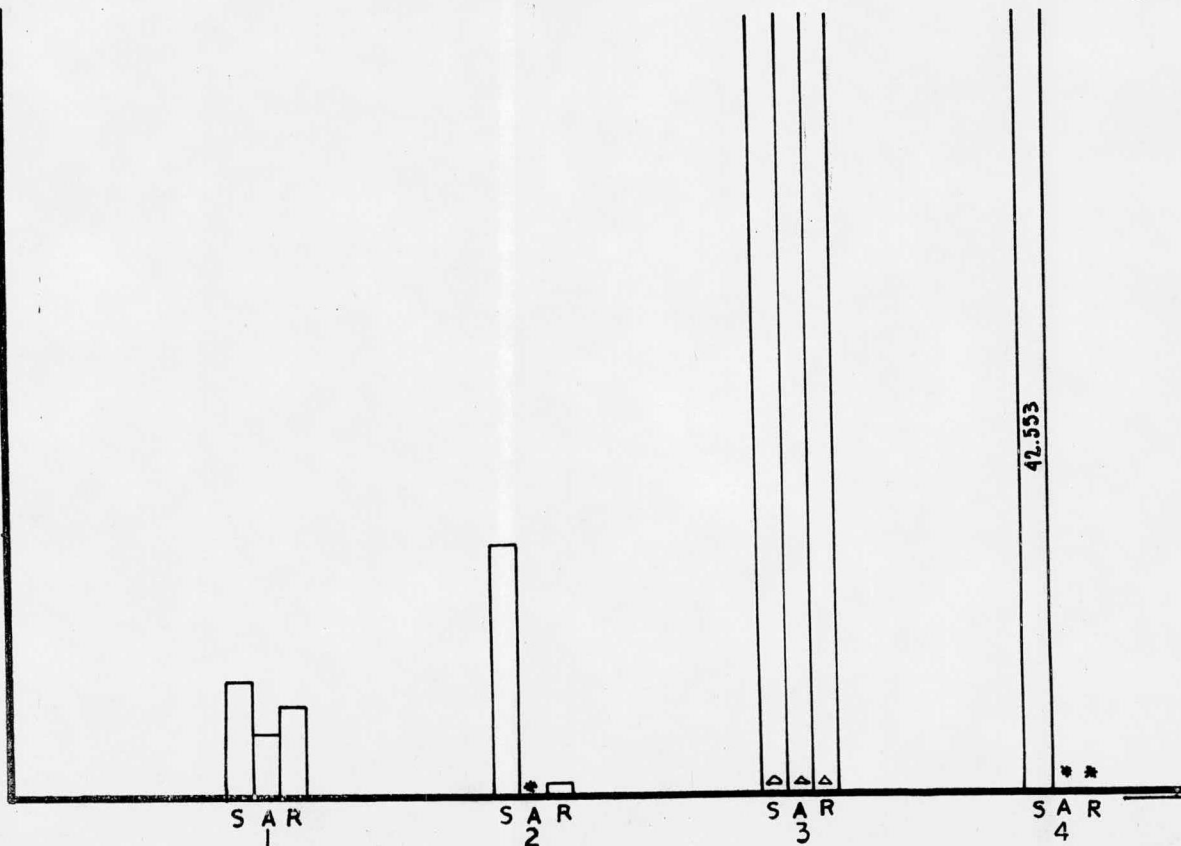
S A R  
1

S A R  
2

S A R  
3

S A R  
4

N.SITIO



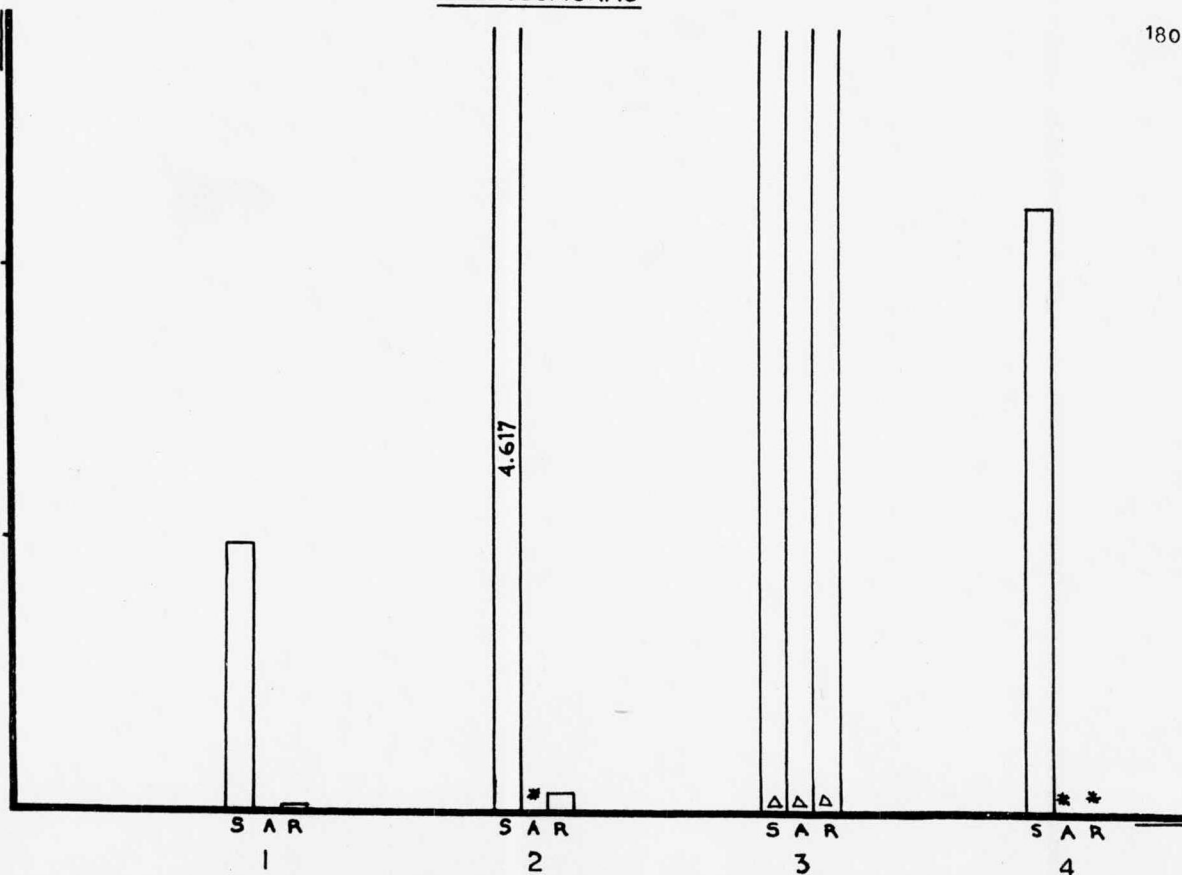
NITROSOMONAS

Nº BACT.  
g. suelo seco

millones

0.5

0.25



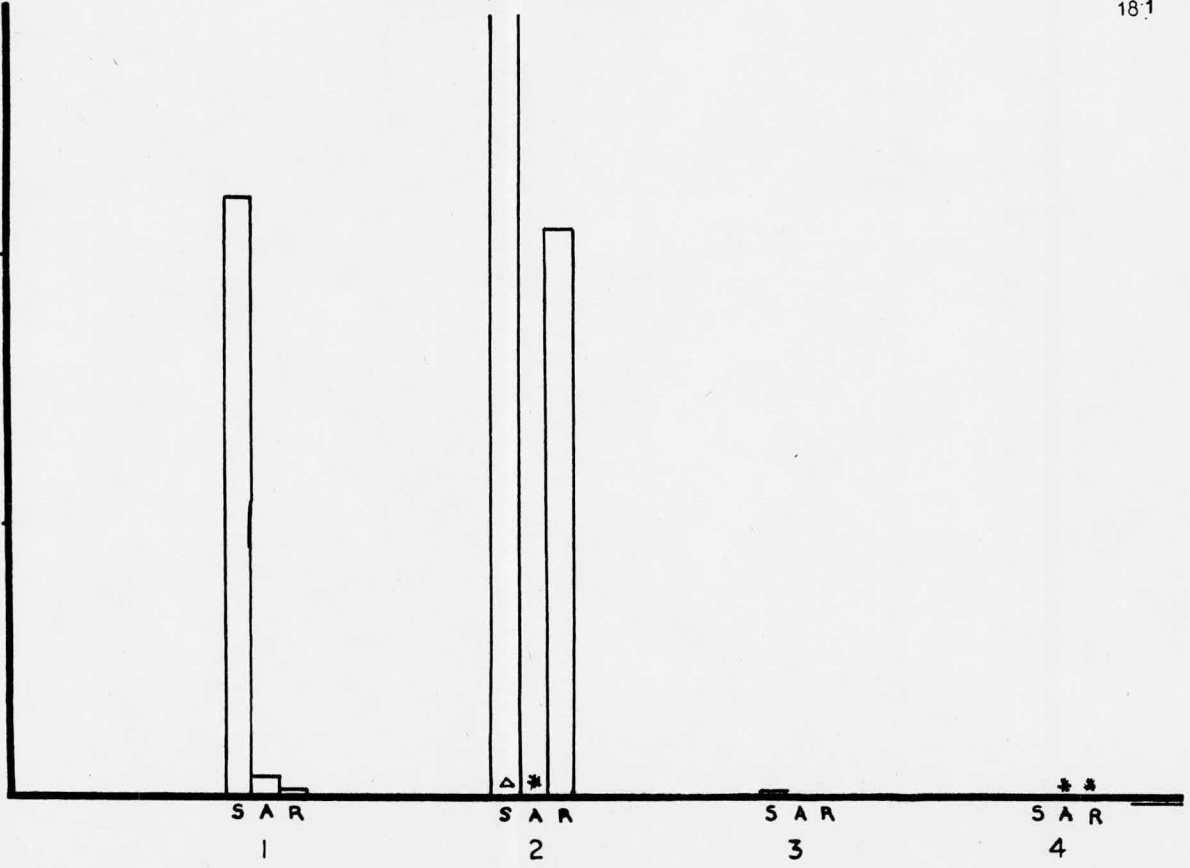
Nº SITIO

DESNITRIFICANTES

N° BACT  
g suelo seco  
millones

0.25

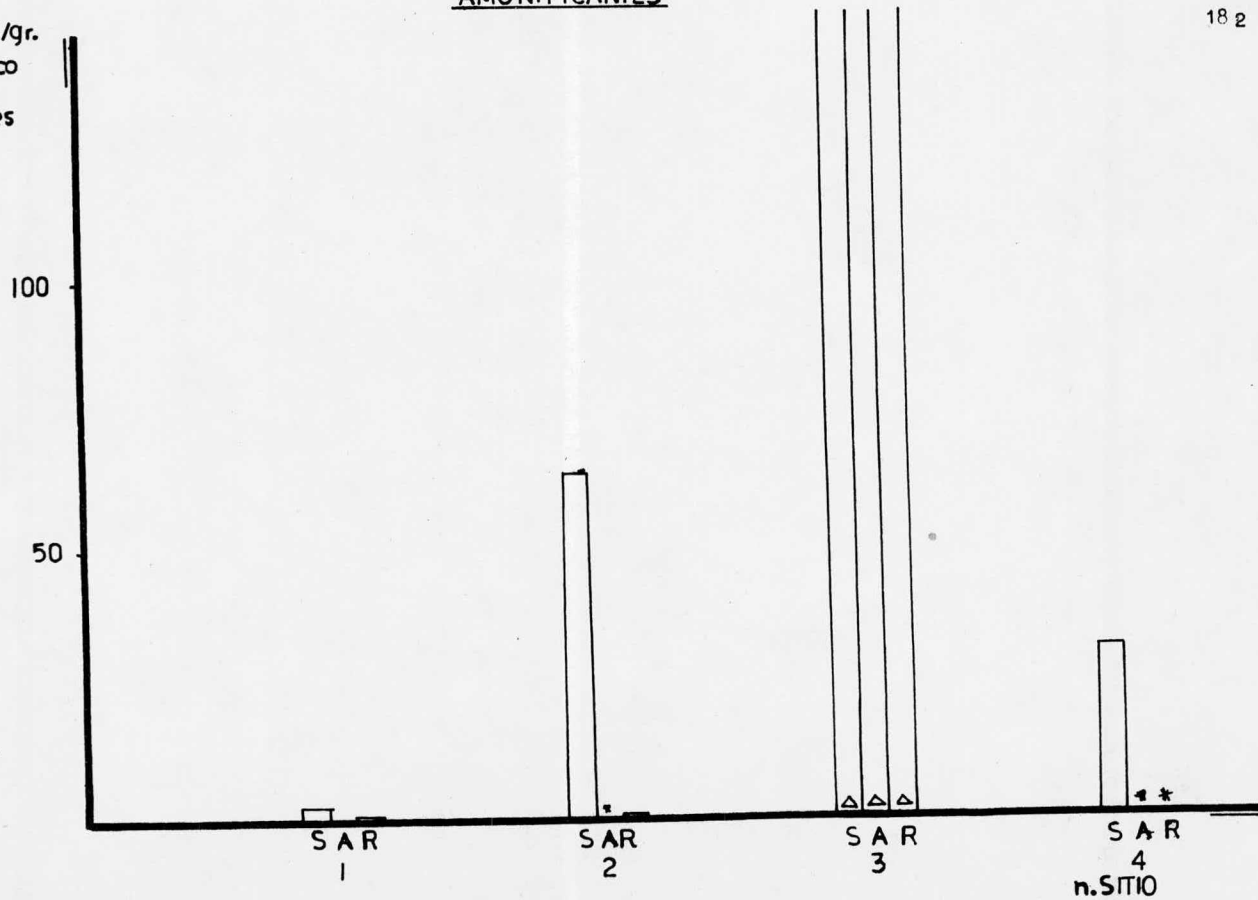
0.125



N° SITIO

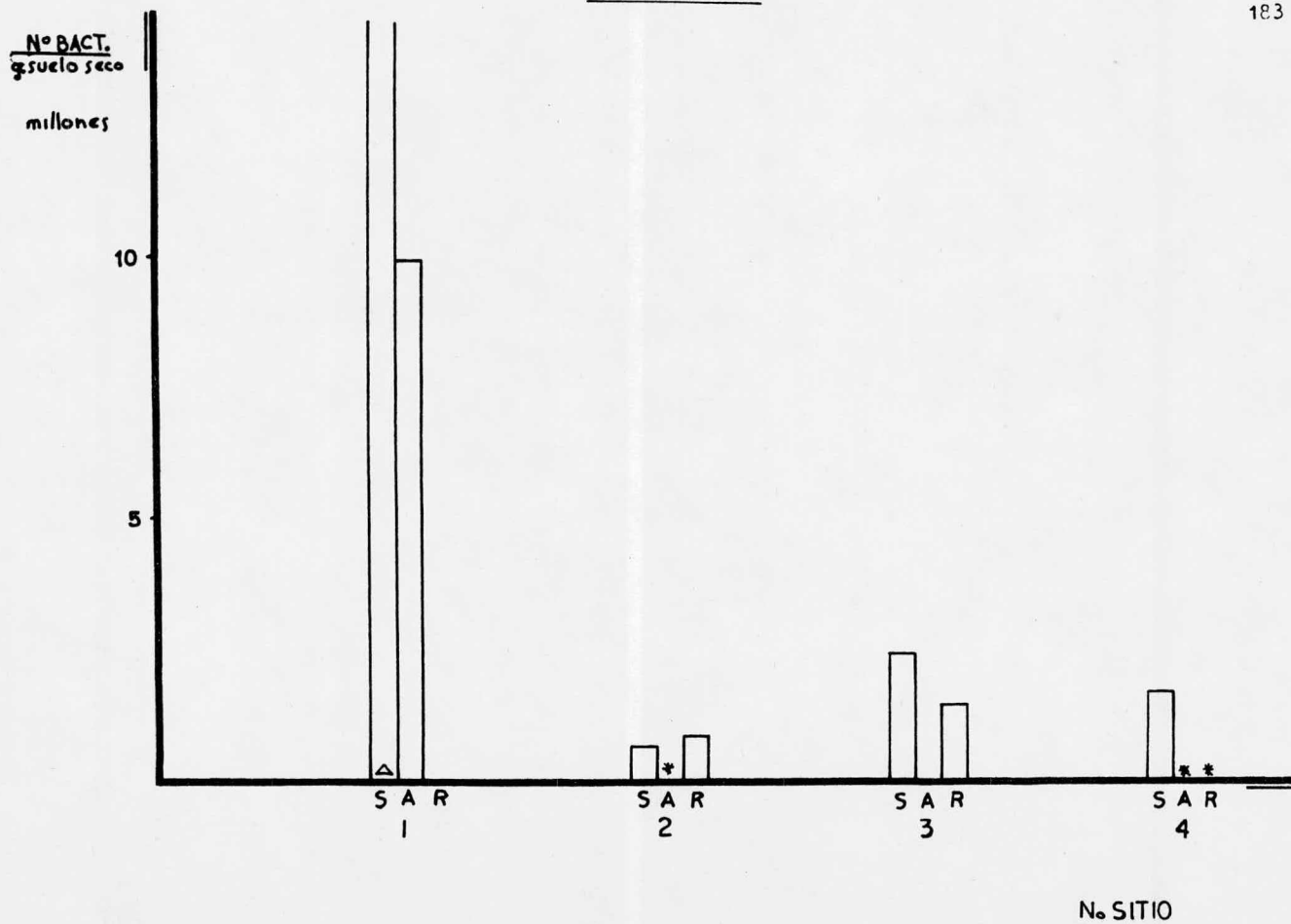
AMONIFICANTES

Nº BACT./gr.  
suelo seco  
millones

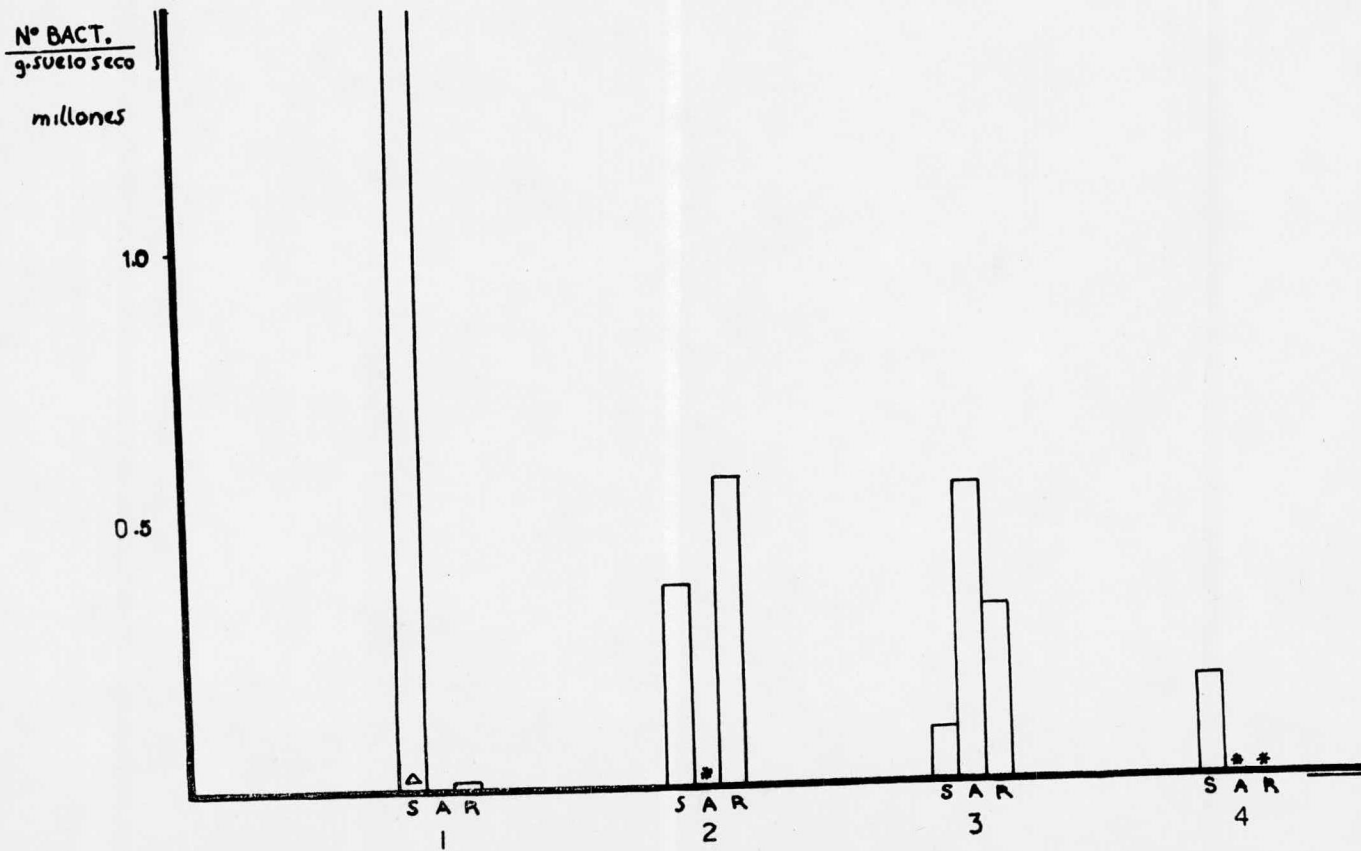




AZULOBACTER



BEIJERINCKIA



N. SITIO

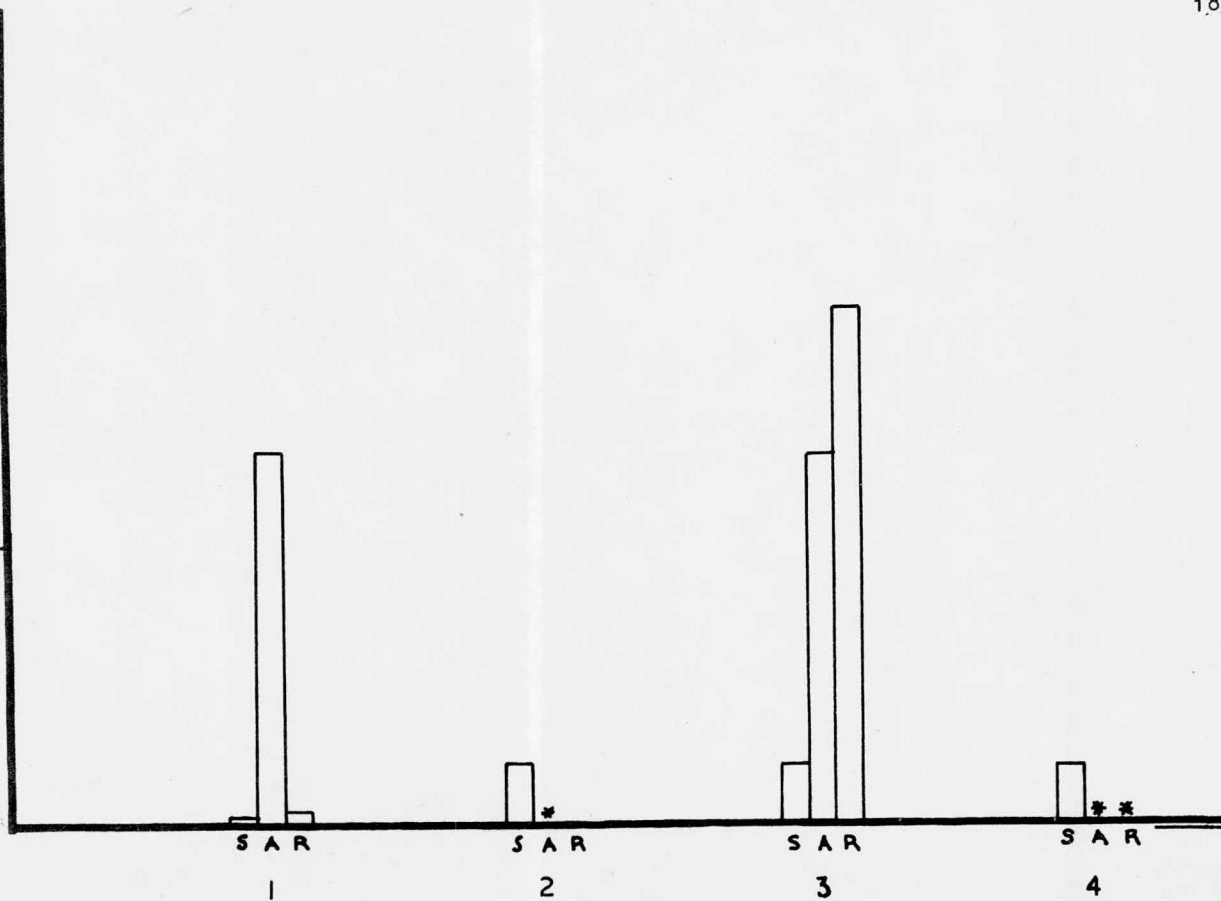
# HONGOS

Nº HONGOS  
g. suelo seco

millones

0.5

0.25



Nº SITIO

## V. D I S C U S I O N

Características Físicas y Químicas.

Consideramos que nosotros tratamos con suelos - característicos del Eje Volcánico, derivados de cenizas - volcánicas, su coloración va a variar de grises a cafés - en seco y se oscurecen los tonos al humedecerse. Son -- suelos ácidos con un  $p^H$  que varía entre 5 a 5.8

La textura es migajón arenoso, son suelos suel- tos, aereados de baja retención de agua y nutrimentos fá- cilmente erosionables al ser eliminada la cubierta vege-- tal. Esto se observó claramente en el sitio No. 2, el -- cial está muy erosionado debido a la tala y a otros distur- bios ocasionados por pastores y agricultores. Se notó -- que sus arcillas estan muy disminuidas, siendo un suelo - francamente arenoso y reteniendo aún menor cantidad de - humedad que los otros sitios.

El contenido de material orgánico es alto ( 27- a 36 % ), debido a la cubierta forestal en los sitios 1,- 3, y 4 y menor en el sitio 2 (10 % ), lo cual es lógico - al ser este último, un sitio sujeto a la erosión. El ni-

cial es la roca si lo comparamos las cortezas de los árboles aunque la mayor cantidad se encuentra en el suelo.

IV. Analizando las siguientes bacterias que contribuyen a la nitrificación del suelo como son las Nitrobacter sp se observó lo siguiente:

1. Nuevamente en el sitio No. 3 se presenta un crecimiento masivo que nos impidió llevar a cabo la cuantificación de esta población en el sitio mencionado.

2. El sitio que presentó la menor cantidad de bacterias de este género fué el No. 1 con 215,384 bacterias /g de suelo seco.

3. La superficie rocosa arrojó un porcentaje de 7.8 % en el sitio No. 1 y de 0.5 % en el sitio No. 3 con respecto al suelo.

4. La corteza del árbol en el sitio No. 1 arrojó un porcentaje de 5.5 % ( más o menos ) con respecto al suelo.

Con éstos datos se observó que el habitat preferencial de las bacterias Nitrobacter al igual que las Nitrosomonas es el suelo, pero que existen en una relación mayor de las Nitrobacter en los árboles y en las rocas que las Nitrosomonas.

2. El sitio que presento la menor cantidad de bacterias amonificantes fué el No. 1 con 2,6384 bacterias / g suelo seco.

3. La superficie rocosa arrojó un porcentaje de 0.3 % más o menos en los sitios 1 y 2, con respecto a la población del suelo.

4. En las cortezas de los árboles no se observó crecimiento de bacterias amonificantes. Por lo que se piensa que su habitat preferencial es el suelo.

III. En el caso de las Nitrosomonas se observó lo siguiente:

1. El crecimiento de las Nitrosomonas en el sitio No. 3 fué masivo, por lo cual no fué posible efectuar la cuantificación.

2. El sitio que presentó el menor número de bacterias Nitrosomonas fué; el No. 1 con 246,153 bacterias/g suelo seco.

3. La superficie rocosa arrojó un porcentaje de 1.3 % más o menos en el sitio No. 1 y de .6 % en el sitio No. 2 con respecto a el suelo.

4. La corteza del árbol en el sitio No. 1 arrojó un porcentaje de 0.3 % en el sitio No. 1 con respecto al suelo. Por lo que se piensa que el habitat preferen--

encontró una variación entre 197 millones de bacterias /g suelo seco a 230,237 millones de bacterias /g suelo seco; el sitio que presentó mayor cantidad de bacterias fué el 3 y el de menor cantidad fué el 4. La corteza de árbol -- arrojó un porcentaje de 52 % ( mas o menos ) en el sitio No. 1 con relación al suelo y de 8 % más o menos en el sitio 3 con relación al suelo.

La superficie rocosa arrojó un porcentaje de -- 1.8 % más o menos en el sitio No. 1, de 6.7 % en el sitio No. 3 y de 168 % en el sitio 2 con relación al suelo.

En base a que las bacterias celulolíticas se -- desarrollan en medios esencialmente neutros o ligeramente alcalinos, podemos concluir que realmente el sitio No. 3-- que es en el que se observa una mayor cantidad es uno de los menos ácidos, lo cual va a permitir un buen crecimiento de dichas bacterias, además este sitio presenta mayor-- proporción de fósforo, potasio, calcio y nitrógeno total, los cuales contribuyen al desarrollo de estos microorga-- nismos.

II. En el estudio de las bacterias Amonificantes se ob-- servo lo siguiente:

1. El crecimiento de las Bacterias Amonifican-- tes en el sitio No. 3 fué muy abundante por lo cual fué -- imposible su cuantificación, a las diluciones utilizadas.

Pudimos observar en lo que se refiere al  $p^H$  que en los cuatro sitios es ácido con un intervalo de  $p^H$  5- - 5.8 , el  $p^H$  más ácido se localiza en el sitio No. 1, mientras que el menos ácido se localiza en el sitio No. 2 con un  $p^H$  5.8, en lo que influirá posiblemente el bajo contenido de materia orgánica en el sitio No. 2 y el alto contenido en los otros sitios ( 34 ) . Además, el agua al - escurrir por las laderas acarrea sales minerales que se - concentran en el valle lo cual origina que las laderas y - los valles tiendan a ser menos ácidos.

En el sitio 2 se observó un porcentaje de humedad bajo con un 16,7 % , mientras que en los sitios 1 y 4- se observó un 35 % aprox. esto puede deberse a la vegetación, árboles y maleza más abundantes en esos sitios. Es to ayuda a demostrar el poder de retención de agua que -- presenta el suelo de los sitios boscosos atribuido a la - vegetación existente en ellos, y que le ayuda a evitar el impacto directo de los rayos solares, y aunado a esto, la formación de una capa de hojarasca producida por los árbo- les que va a ayudar a preservar la humedad, lo cual no se observa en el sitio 2.

En relación a los análisis microbiológicos en-- contramos que:

I. En lo que se refiere a las bacterias Celulolíticas se



trógeno total, es alto en los cuatro sitios aunque menor en el sitio No. 2, lo que puede explicarse por el contenido alto de materia orgánica y además existir una influencia del ganado de esos lugares.

La relación carbono nitrógeno en los sitios 3 y 4 cercano al óptimo en los sitios 1 y 2 es alta (siendo el óptimo entre 10-15 ) lo que indica acumulación de la materia orgánica sin descomponer en el suelo ( hojarasca) en los sitios 3 y 4. El contenido de fósforo es bajo en los sitios 2 y 4 y regular en el 1 y el 2 ( 25 ). El potasio se encuentra en mejor proporción, en los sitios 1 y 2 a alto en los 3 y 4 ( 25 ).

El calcio ( calcio y magnesio ) se encuentran en proporciones muy bajas. La capacidad de intercambio catiónico es baja en el sitio 2, regular en el sitio 3 y 4 y ligeramente alta en el 1 ( 12 ).

Se observa que el sitio No. 2 presenta características físicas y químicas más alteradas, lo que concuerda con el aspecto del sitio, siendo el más erosionado, -- mientras que el sitio No. 1 presentó la menor alteración de los sitios elegidos, caracterizandose el 1, 3 y 4 bosquetes húmedos, éste puede ser un índice del porque no ha sido posible el desarrollo de otro tipo de vegetación en el sitio No. 2

Es de notarse que el sitio No. 3 se presentó un crecimiento masivo de estas bacterias nitrificantes, lo mismo de que en el caso de las amonificantes, lo cual podría ser indicio de que las condiciones existentes en este suelo favorece el crecimiento de este tipo de microorganismos y este unido a que el porcentaje de N total detectado en el suelo no fué mayor en relación con otros sitios indica que en este sitio la vegetación consume una gran cantidad de nitrógeno del suelo, en cuanto al  $p^H$  en realidad no es posible obtener una conclusión puesto que son  $p^H$  que no tienen un gran rango de oscilación y en todo caso al ser bacterias que desarrollan a  $p^H$  neutro, su crecimiento debería de haber sido mayor en el sitio 2, sin embargo como pudimos observar fué en el 3 en el que se presento un crecimiento masivo y por ello no cuantificable a las diluciones en que se trabajo esto puede deberse a que las condiciones propias del medio, en general, eran más adecuadas en éste sitio.

V. En el caso de las bacterias Desnitrificantes se observó lo siguiente:

1. En el sitio No. 4 no se presentó crecimiento por lo cual no fué posible la cuantificación, de dicho género.

2. El mayor crecimiento se presentó en el sitio No. 3 con 1,911,589 bacterias /gramo de suelo seco. Esta

puede ser otra de las razones que contribuyen al bajo porcentaje de N total en el sitio 3, a pesar del gran crecimiento de bacterias Nitrificantes que por su presencia acarrearán la pérdida del elemento ya que pueden formar a partir de nitratos y nitritos N gaseoso que se libera disminuyendo la concentración de éste en el suelo.

3. La superficie rocosa arrojó un porcentaje de 0.5 % en el sitio 1, de 13 % en el sitio 2 y de 4 % ( más o menos ) con respecto al suelo.

4. La corteza del árbol en el sitio No. 1 arrojó un porcentaje de 2.5 % y en el sitio No. 3 de .8 % con respecto al suelo.

VI. Las bacterias de tipo Beijerinckia presentaron los siguientes resultados:

Es de notarse que en el sitio No. 1 fueron innumerables en el suelo, a las diluciones efectuadas, no hubo crecimiento en las cortezas y en las rocas el crecimiento fué de 12,000. En los demás sitios, el número de estos microorganismos osciló entre 369,000 y 94,000 en el suelo. En las rocas se observó un crecimiento muy abundante, con 569,000 microorganismos en el sitio 2, lo que causa sorpresa por lo erosionado del sitio. De todas maneras se obtuvieron buenos crecimientos en el material rocoso, por lo que es interesante continuar con trabajos-

semejantes, para poder hacer relaciones más exactas. Esto probablemente se debe a que las condiciones de acidez del medio y en general todo el ecosistema integrante era bastante adecuado para el desarrollo de éste tipo de bacterias.

VII. En el caso del Género Azotobacter se presentaron las siguientes características:

1. Se presentó un crecimiento masivo de Azotobacter en el sitio No. 1 imposibilitado así la cuantificación, dentro del rango que estudiamos podemos decir que el segundo sitio en el cual se presentó un máximo crecimiento fué en el 3 con 2,429 bacterias /gr. de suelo seco y el mínimo crecimiento se presentó en el sitio 2 con 640, 503 bacterias/gr. de suelo seco.

2. En la corteza del árbol con respecto al suelo no es posible establecer una relación de porcentaje en ningún sitio puesto que en el 1 se presentó un crecimiento masivo en el suelo y en el sitio 3 no se presentó crecimiento en árbol.

3. En el caso de la superficie rocosa se arrojó un porcentaje de 139 % en el sitio 2 ( debido a que se presento mayor crecimiento en roca que en suelo ) y en el sitio 3 un porcentaje de 60 % ( más o menos ) con respecto al suelo.

Las bacterias del género *Beijerinckia* han sido diferenciadas hasta épocas muy recientes del género *Azotobacter* de ahí la dificultad que presentan en su identificación, ambas bacterias son fijadoras de nitrógeno, por sus características ha sido reportado que su presencia es preferencial en suelos ácidos mientras que *Azotobacter* encuentra su medio ambiente óptimo en suelos ligeramente básicos, sin embargo los resultados observados en el presente trabajo, en el cual han sido analizados suelos ácidos, indican una mayor presencia de bacterias del género *Azotobacter* en todos los sitios, contradiciendo así la información de la literatura (6), (33). Se encontró que en el sitio 1 hay cantidades altas de *Azotobacter* y de *Beijerinckia*, y en el sitio 2 que es el lugar en el que  $p^H$  es menos ácido existe el doble de estas bacterias ( en éste caso y basándose en la información de la literatura antes mencionada si es lógico que sea el sitio que presenta mayor cantidad de bacterias *Azotobacter* ) sin embargo en general y por ser sitios ácidos debería existir un predominio de *Beijerinckia*.

Es de notarse además que existe aproximadamente el mismo número de bacterias *Beijerinckia* tanto en roca como en suelo y corteza de árboles lo cual demuestra que no tienen un habitat preferencial.

VIII. Finalmente los resultados que se encontraron al analizar a los hongos fué siguiente:

1. Se presentó una variación de crecimientos -- que osciló entre 3,6 de hongos/gr. de suelo seco hasta -- 518,511 hongos /gr. de suelo seco, encontrándose la mayor cantidad en el sitio 3 y la menor cantidad en el sitio 1.

2. La corteza de los árboles es en el sitio 1 -- arrojó un porcentaje de 9325 % debido a que se presentó -- un crecimiento 100 veces mayor en el árbol que en el suelo y en el sitio 3 el porcentaje arrojado fué de 64 % con respecto al suelo ( más o menos ).

3. La superficie rocosa arrojó un porcentaje de 329 % más o menos en el sitio No. 1, debido a que en la roca el crecimiento fué aproximadamente 5 veces mayor que en el caso del suelo, en el sitio 3 el porcentaje observado fué de 64.2 % más o menos con respecto al suelo en el caso del sitio No. 2 no es posible establecer ésta relación puesto que no se presentó crecimiento alguno.

En base a las características físico químicas -- del suelo en estos sitios, el crecimiento de los hongos -- debería haber sido máximo en el sitio 1, sin embargo fué el sitio en que el crecimiento fué menor, esto es en base a las condiciones en que los hongos presentan su óptimo -- desarrollo (15), éste quizá se deba a que en el sitio 3 --

que es el lugar en que se presentan su desarrollo óptimo- las condiciones del ecosistema global éran mejores, este sitio ocuparía el segundo lugar en cuanto al crecimiento- óptimo de estos hongos en base a la literatura. También- es de sorprenderse el que en la corteza de los árboles y rocas estudiadas, hubiera una concentración tan alta de - estos microorganismos. En general estos resultados pre-- sentan puntos de interes para el estudio posterior de la- investigación forestal en México ya que valores reporta-- dos por otras regiones del mundo están en contraccición a estos resultados obtenidos en esta zona (20). Lo cual -- nos da una razón para buscar más información acerca de -- suelos de este tipo, ( derivados de cenizas volcanicas )- además de que los datos que proceden de otros países no - son aplicables a nuestro medio, también incluye una inova- ción al estudio forestal en México, al efectuarse un estu- dip global en éste ecosistema tan especial que comprende- el estudio del suelo, de la vegetación que soporta, in- - cluyendo al análisis microbiológico en árboles y rocas. - Podemos considerar pues que nuestros objetivos de estudio fueron cumplidos, así como es importante señalar que los- resultados obtenidos en su mayoría fueron los esperados,- en base a los sitios escogidos que presentaban diferentes perturbaciones.

## VI. CONCLUSIONES.

De todo lo anterior podemos concluir que hubo resultados esperados e inesperados, en el estudio de la microbiología, al obtener cantidades superiores a lo esperado, de ciertas especies de microorganismos, en las rocas y árboles, sería interesante tratar de identificar a los hongos que habitan en la corteza de estos árboles y hacer un estudio más intenso de la microbiología de ellos y de las rocas para tratar de comprender mejor las funciones que desempeñan, en relación a la microbiología del suelo circundante.

Es necesario continuar con esta clase de estudios para ir mejorando nuestro conocimiento sobre reserva microbiológica de microorganismos del suelo, y su relación son las características químicas y físicas del sustrato ( suelo, rocas y plantas ) como primeros pasos para conocer mejor su importancia en la ecología de una región, en este caso forestal, para ayudar posteriormente al incremento de la productividad y regeneración de zonas forestales.



## BIBLIOGRAFIA

1. An International Symposium., (1968). THE ECOLOGY OF -- SOIL BACTERIA. Edited by T.R.G. Gray and D. Parkinson. University of Toronto Press.
2. Alexander Martin., (1964). INTRODUCTION TO SOIL MICROBIOLOGY. John Wiley & Sons, Inc. New York, London.
3. Alexander Martin (1971) MICROBIAL ECOLOGY John Wiley & Sons, Inc. New York, London.
4. Burges A. and Raw F. (1967). SOIL BIOLOGY. Academic -- Press. London and New York.
5. Bouyoucos, G.J. (1936). DIRECTIONS FOR MAKING ANALYSIS OF SOILS BY THE HIDROMETER METHOD. Soil Science Vol. - 10 Pags. 225 - 230.
6. Becking. J.H. (1961). STUDIES ON NITROGEN FIXING BACTERIA OF THE GENUES BEIJERINCKIA. GEOGRAFICAL AND ECOLOGICAL DISTRIBUTION IN SOILS. Plant and Soil. Vol. 14 - Pags. 49 - 79.
7. Baver L.D. (1959). SOIL PHYSICS. John Wiley and Sons, - Inc. New York U.S.A.
8. Burris R.H., Ljones T, Emerich D.W. (1978). NITROGENASE SYSTEMS LIMITATIONS AND POTENCIALS FOR BIOLOGICAL-- NITROGEN FIXATION IN THE TROPICS. Basic Life Sciences. Plenum Press. N.Y. U.S.A. Vol. 10 Pags. 191- 207.

9. Blak C.A. (1965) METHODS OF SOIL ANALYSIS AGRONOMY.--  
No. 9 Part 2 Editorial American Society of Agronomy -  
Inc. Publ.
10. BRILL J. Winston (1978). GENETICS AND REGULATION OF -  
NITROGEN FIXATION LIMITATIONS AND POTENTIALS FOR BIOLO  
GICAL NITROGEN FIXATION IN THE TROPICS. Basic life --  
Sciences. Plenum Press. N.Y. U.S.A. Vol. 10 Pags. 237  
246.
11. Cajuste j., Dr.Lenon.(1977) QUIMICA DE SUELOS. Cole -  
gio de Postgraduados Chapingo México.
12. Carmona G. (1976). MANUAL DE LABORATORIO PARA EDAFOLO  
GIA Y FERTILIDAD DEL SUELO. Facultad de Agronomía de  
la Universidad de Nuevo León. México.
13. BEAR F.E. (1971)-Chemistry of Soils Reinhold. Publish  
ing Corporation. New York.
14. Cheng y Bray (1951). DETERMINATION OF CALCIUM AND - -  
MAGNESIUM IN SOIL AND PLANT MATERIAL. Soil Science --  
Vol. 72.Pág.449 - 458.
15. Conn, H.J. (1950). THE MOST ABUNDANT GROUPS OF BACTE-  
RIAL IN SOIL. Bacterial Review. Vol. 12 Pág.49 - 79.
16. Dubos J. (1926). THE DESCOMPOSITION OF CELULOSE BY- -  
AEROBIC BACTERIA Journal Of. Bacteriology. Vol. 15 --  
Pags. 323 - 324.
17. Dart, P.J., J.M. (1975). NON SIMBIOTIC NITROGEN FIXA-  
TION IN SOIL. Soil Microbiology. A critical review. -  
Edited by N. Walker. Butterworths. London. Pags. 225-  
251.

18. Dobereiner, J., Martiel, I.E. y Nery M. (1976) ECOLOGICAL DISTRIBUTION OF SPIRILUM LIPOFERUM BEIJERINK. Can J. Microbiol. Vol. 22 Pags. 1464 - 1473.
  
19. Evans H.J., Ruíz Augusto T., Rossell S.A. (1978). RELATIONSHIP BETWEEN HYDROGEN METABOLISM AND NITROGEN FIXATION IN LEGUMES. LIMITATIONS AND POTENTIALS FOR BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION IN THE TROPICS. Basic life - - Sciences. Plenum Press. N.Y U.S.A. Vol. 10 Pags. 209-221.
  
20. Fassdender Hans W. (1977). QUIMICA DE SUELOS. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.
  
21. Frobisher M. (1976). MICROBIOLOGIA Ed. Interamericana. México.
  
22. Gilman Joseph C. (1957). MANUAL DE LOS HONGOS DEL SUELO. Compañía editorial continental S.A. México.
  
23. Garassini Luis A. (1962). EL SUELO Y SU MICROFLORA. -- Revista de la facultad de agronomía de la Universidad Central de Venezuela.
  
24. Hawker Lilian E. y Linton Alan E. (1971) MICROORGANISMOS. American Elsevier Publishing Company, Inc. New -- York.
  
25. I.N.I.A. RECOPIACION DE METODOLOGIAS DE ANALISIS DE SUELOS E INTERPRETACION. (1973) - SAG. México.
  
26. Jackson, L.M. (1970). ANALISIS QUIMICO DE SUELOS. Ediciones Omega S.A. Barcelona España.
  
27. Odum Eugene P. (1974). ECOLOGIA. C.E.C.S.A. México.

28. Martín. J.P. - 1950 USE OF ACID, ROSE BENGAL AND STREPTOMICIN IN THE PLATE METHOD FOR ESTIMATION SOIL FUNGI. \_\_\_ Soil Science. Vol. 69 pag.215
29. Peech- English. (1973) METODOLOGIA DEL LABORATORIO DE SUELOS FORESTALES DEL I.N.I.F. \_ S.A.R.H. - México.
30. Quintero Ramos m.J. (1978).FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO. Tesis predoctoral. E.N.C.B. I.P.N.
31. Richards L.a. (1973) SUELOS SALINOS Y SODICOS.,Ed. Limusa.
32. Robinson, G.W. (1960). EL SUELO. CONSTITUCION Y CLASIFICACION, Introduction a la Edafología. Ed. Omega, S.A. Barcelona España.
33. Sanchez Marroquín Alfredo (1971). MICROBIOLOGIA AGRICOLA. Chapingo Méx.
34. Soto S.J. y Avila H.M. (1976) METODOLOGIAS DE ANALISIS DE SUELOS APLICABLES A LA RAMA FORESTAL. I.N.I.F. 9° -- Congreso Nal. de la ciencia del suelo. Durango, Dgo.
35. Waskman Selman A. (1952). SOIL MICROBIOLOGY. John Wiley & Sons, INC. New York. Chapman & Hall. Limited, London.
36. Wilde S.A. (1858). FOREST SOILS. The Ronald Press Company. New York.