

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



ESTUDIO MICROBIOLOGICO DE LA RIZOSFERA
DE LA CAÑA DE AZUCAR, CON ENFASIS EN
LAS BACTERIAS, AEROBIAS LIBRES, FIJADORAS
DE NITROGENO

T E S I S

Que para obtener el Título de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a

MANUEL

MORALES

NAJAR

México, D. F.

1977



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 1977
DO [REDACTED]
FECHA _____
PROF. _____
I _____

287



QUIMICA

JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof. CARLOS DEL RIO ESTRADA
Vocal	Prof. ALFREDO ECHEGARAY ALEMAN
Secretario	Prof. SERGIO PALACIOS MAYORGA
1 ^{er} Suplente	Prof. LILIA VIERNA DE GARCIA
2 ^o Suplente	Prof. JORGE SOTO SORIA

Sitio donde se desarrolló el tema:

DEPARTAMENTO DE EDAFOLOGIA, SECCION DE BIOLOGIA
DEL SUELO, INSTITUTO DE GEOLOGIA. U.N.A.M.

Sustentante MANUEL MORALES NAJAR

Aesor del tema SERGIO PALACIOS MAYORGA

CON VENERACION Y AMOR A MIS PADRES

ANTONIO E IGNACIA

A MIS HERMANOS

ANTONIO, VICTOR, RICARDO, JOSE, CARMEN

A TI " TERE "

"QUIERO POR ESTE CONDUCTO AGRADECER A
TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE EN UNA U OTRA FORMA CONTRIBUYERON
AL TERMINO DE MIS ESTUDIOS PROFESIONALES Y A LA CONFIGURACION
DE ESTE ESTUDIO. HAGO PATENTE MI AGRADECIMIENTO AL PERSONAL
DEL INSTITUTO DE GEOLOGIA"

CON EL MAYOR RESPETO Y VENERACION
HAGO PATENTE MI MAS PROFUNDO
AGRADECIMIENTO :

AL M. EN C. SERGIO PALACIOS MAYORGA, POR SU ACERTADA DIRECCION
EN LA PRESENTE TESIS, VALIOSOS CONSEJOS Y SU CONFIANZA EN MI

E INSTANTE.

EL LOCO, YO, O ELLOS?

UNA IDEA A VECES ME ESTREMACE: ¿QUIEN ES

LOS OJOS ANTE LA VIDA.

EN EL DETALLE, PODRIA BIEN ESTAR MUY MUERTO, PUES YA HA CERRADO

DE CONTEMPLAR O DE CONOCER EL ESTREMOCERSE PROFUNDO DEL ALMA
.....¿QUIEN NO SE CONMUERA, QUIEN SEA INCAPAZ

I N D I C E

	Págs.
I .- INTRODUCCION	7
II .- REVISION BIBLIOGRAFICA	9
A) LOCALIZACION DE LA ZONA DE ESTUDIO	
B) CLIMA	
C) SUELO	
D) CULTIVO DE LA CAÑA DE AZUCAR EN MEXICO	10
E) MICROBIOLOGIA	
III.- MATERIAL Y METODOS	39
A) MUESTREO	
B) DETERMINACIONES FISICAS Y QUIMICAS	
C) DETERMINACIONES MICROBIOLOGICAS	40
IV .- RESULTADOS Y DISCUSION	42
V .- RESUMEN	55
VI .- BIBLIOGRAFIA	57

I .- INTRODUCCION

No obstante los numerosos estudios que sobre las interacciones planta - microorganismo se han realizado, aún queda mucho por conocer acerca de la ecología microbiana y del papel de los microorganismos en la rizosfera de muchas plantas.

Durante la última década, algunos trabajos han sido enfocados a dilucidar si los microorganismos que habitan la rizosfera son simples limpiadores de los desechos de la raíz, o bien, si tienen efectos benéficos o dañinos sobre las plantas. Estos trabajos han permitido apreciar la existencia de microorganismos que producen efectos benéficos para las plantas, siendo de especial interés aquellos que les proporcionan elementos asimilables para su desarrollo.

Considerando que el nitrógeno es uno de los elementos esenciales para las plantas, el que presenta muchas dificultades para ser abastecido en cantidades suficientes, y con el aumento en la demanda de los fertilizantes, cada vez más costosos, cualquier ahorro en la fertilización nitrogenada sería altamente benéfico y redundaría en una mayor producción a menor costo. Por tanto, tal vez podría ser una solución la utilización de aquellos microorganismos del suelo que poseen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico.

Se han realizado trabajos mediante la inoculación con Azotobacter, para tratar de incrementar la producción agrícola (Mishustin y Shil'nikova, 1971); así como investigaciones acerca del efecto altamente estimulante de algunas plantas tropicales sobre ciertas bacterias libres fijadoras de nitrógeno, como es el caso de la asociación caña de azúcar - Beijerinckia sp., y de Paspalum notatum con Azotobacter paspali (Döbereiner, 1968). Para la primera asociación, se ha encontrado una actividad de fijación de nitrógeno hasta de 50 kg/ha/año (Döbereiner, Day y Dart, 1973). La poca o nula respuesta a la fertilización nitrogenada de la caña de azúcar, sugiere que la fijación de nitrógeno no simbiótica asociada a la raíz, contribuye

en mucho al abastecimiento de nitrógeno de esta planta (Dart y Day, en Walker, 1975).

Los trabajos antes mencionados, amados a valores elevados de fertilización nitrogenada (100 - 200 kg/ha) utilizados en nuestro país para el cultivo de la caña, ONIA (Comisión Nacional de la Industria Azucarera) (1975), así como la carencia de trabajos publicados sobre la biología de la rizosfera de la caña de azúcar en México, motivaron nuestro interés por abocarnos a la investigación de las bacterias libres fijadoras de nitrógeno, que pudieran aportar el nitrógeno al suelo, para satisfacer, en forma parcial o total, las necesidades del cultivo de la caña de azúcar.

Con la presente investigación tratamos de contribuir al conocimiento de la biología de la rizosfera de la caña de azúcar, mediante la cuantificación de la población microbiana total y de los principales grupos microbianos fisiológicos específicos del suelo, estableciéndose una comparación con la población microbiana de la rizosfera y su correlación con algunas características físicas y químicas del suelo.

A) LOCALIZACION DE LA ZONA DE ESTUDIO

El área de muestreo se localiza en el Estado de Veracruz, al oriente de la Ciudad de Jalapa, en los Municipios de Dos Ríos y Emiliano Zapata, respectivamente.

B) CLIMA

El clima del área estudiada se determinó en base al informe climatológico de la Estación de Teocelo, la más cercana; según el Sistema de Köppen, modificado por García (1974). Los sitios de muestreo se localizan aproximadamente a 1,200 m.s.n.m., los cuales corresponden a la zona climatológica (A)C(m)a(i')g, que se caracteriza por ser semicálida húmeda, cálida en verano, con temperatura media anual mayor de 18°C y la del mes más frío menor de 18°C. La temperatura media del mes más caliente es de 22°C, y presenta un cociente P/T de 11.45. Dentro de ésta zona predominan los cultivos de caña de azúcar, pepino, calabaza y, en menor escala, el maíz.

C) SUELO

Como únicos antecedentes edafológicos, cercanos a las localidades del presente trabajo, se tienen los estudios realizados por Torres (1976) en el transecto Teziutlan - Puebla a Jalapa, Veracruz; y el de Loran (1976) en el transecto Jalapa - Teocelo, Veracruz; habiéndose encontrado en ambos casos suelos derivados de cenizas volcánicas cuya clasificación de acuerdo con el U.S.D.A (United States Department of Agriculture) 7ª Aproximación, cae dentro del orden de los Inceptisoles. Estos suelos se caracterizaron por ser generalmente de color pardo y en ocasiones grises; frecuentemente con una densidad aparente de 0.7 - 1.3; su densidad real fluctúa de 1.09 - 2.63; la textura es principalmente migajón arcillosa o arenosa, y a veces franca; la reacción del suelo varió de ácida a neutra; el porcentaje de materia orgánica resultó a veces muy alto (14.08%) en las capas superficiales, y en otras bajo (1.12%), generalmente el contenido de materia orgánica disminuyó en función de la profundidad; la capacidad de intercambio catiónico total (C.I.C.T.) alcanzó con

frecuencia valores de 18 - 33 o más meq/100g; fué característico el hallazgo de alofano; se menciona la presencia de óxidos e hidróxidos de fierro.

D) CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN MEXICO

El cultivo de la "caña de azúcar" merece consideración especial en México, en vista de que prospera en áreas dotadas de clima tropical lluvioso con lluvias en verano e invierno seco, por lo que su cultivo en nuestro país, abarca una superficie de 476,695 ha.

Entre las principales entidades cañeras del país por su producción están Veracruz, Tamaulipas, Sinaloa, Jalisco y Morelos. Su cultivo en el Edo. de Veracruz comprende una extensión de 190,370 ha.

Los niveles de requerimientos nutricionales para la caña de azúcar varían para el nitrógeno de 100 - 200 kg/ha., dependiendo de la región cañera, suelo y disponibilidad de riego.

En los Municipios de Dos Rios y Emiliano Zapata se tiene, una dosis de fertilización nitrogenada recomendada por el IMPA (Instituto para el Mejoramiento de la Producción Azucarera, 1975) de 150 kg/ha. CNIA (1975).

E) MICROBIOLOGIA

Rizosfera

Hiltner (1904) describió la zona que presenta la más abundante población de microorganismos que rodea a las raíces, y le dió el nombre de rizosfera (el suelo influye de forma inmediata por las raíces de las plantas) (En Burges y Raw, 1971).

En vista de que la raíz es el órgano por donde los nutrientes minerales del suelo son principalmente absorbidos y uno de los sitios a través del cual los patógenos pueden penetrar, el estudio de las interacciones planta - microorganismo es de considerable importancia para la producción agrícola y la fertilidad del suelo (Alexander, 1961).

A pesar de la gran cantidad de estudios realizados sobre dichas interacciones, existe aún mucho por conocer sobre los microorganismos y la ecología de la rizosfera de las plantas (Rovira y Davey

, citados en Carson, 1974).

La rizosfera no es una región uniforme bien definida, y no es posible generalizar sobre la extensión de ésta, debido a su dependencia con el estado metabólico de la planta y la naturaleza del suelo (Parkinson, citada en Burges y Raw, 1971).

La planta ejerce sobre la microflora de la rizosfera:

- 1.- Una acción directa con la exudación de sustancias o con la exfoliación de tejidos que estimulan a la microflora-, si se trata de fuentes de energía o de sustancias de crecimiento-, o por el contrario que la inhiben si son sustancias tóxicas;
- 2.- Una acción indirecta modificando las condiciones generales del ambiente en el suelo; actúa p.ej. sobre la estructura, el régimen hídrico, la acidez, el contenido de elementos nutritivos, la composición de la atmósfera del suelo (Dommergues y Mangenot, 1970).

En el suelo, el estímulo ejercido por las raíces sobre el desarrollo microbiano (efecto de rizosfera) se ha demostrado comparando el número de microorganismos por unidad de peso, en el suelo de la rizosfera con el que se encuentra en el suelo distante de las raíces; Katznelson (1946) denominó a estos valores con el término "relación R:S", Rizosfera :Suelo (En Walker, 1975).

Se ha demostrado que el máximo efecto estimulante de las raíces de las plantas sobre los microorganismos del suelo, tiene lugar sobre la superficie de la raíz (Rizoplana), Starkey (1931); Katznelson, Lochhead y Timonin (1948); Webley, Eastwood y Gimmingham (1952).

En lo que se refiere a los microorganismos, se sabe que éstos presentan diversos tipos de relaciones con las raíces de las plantas superiores:

- 1.- Simbióticas (p.ej. asociaciones micorrícicas, nódulos de las leguminosas)
- 2.- Parasitarias (en donde los organismos causantes varían en su grado de especialización)
- 3.- Relaciones menos claramente definidas, consideradas en conjunto como fenómenos de rizosfera y de superficie radicular (Parkinson, en Burges y Raw, 1971).

En la última década ha surgido el interés por la biología de

la rizosfera, en especial por conocer si los microorganismos que la habitan son simples limpiadores de los productos de desecho, o bien si ellos tienen efectos benéficos o dañinos sobre las plantas (Rovira y Davey, citados en Carson, 1974).

Actualmente se sabe que la microflora de la rizosfera actúa sobre la planta ya sea directamente por medio de sus productos catabólicos, de síntesis o de lisis, que ejercen sobre la planta un efecto benéfico o tóxico, o bien indirectamente modificando el medio químico (biodegradación de sustancias biológicamente activas, solubilización, mineralización o inmovilización de los elementos nutritivos) o físicamente influyendo en la agregación (Demmergues y Mangenot, 1970).

Se ha visto que las bacterias, los actinomicetos, y los hongos de la rizosfera y la rizoplana (suele de la superficie radicular) afectan la planta huésped a través de su influencia sobre factores tales como el aprovechamiento de los nutrientes, el crecimiento y la morfología de las raíces, la fisiología y desarrollo de las plantas (Rovira y Davey, citados en Carson, 1974).

Podemos citar la capacidad de algunas plantas para utilizar algunos aminoácidos liberados por microorganismos; tal es el caso de Trifolium pratense que utiliza: alanina, ácido aspártico, arginina y en menor grado lisina, glicocola y ácido glutámico. Por otra parte la fitotoxicidad de ciertos aminoácidos está bien establecida; el triptofano, la prolina y la valina en dosis de 200 ppm son tóxicos para las plántulas de tabaco (Steinberg 1947, citado por Demmergues y Mangenot, 1970).

En vista de que la planta crea un hábitat subterráneo único para los microorganismos, la microflora que responde a la presencia de las raíces difiere no únicamente en número sino cualitativamente de aquella que domina el suelo ajeno a las raíces (Alexander, 1961).

Brown al respecto, dice que las diferencias entre la microflora del suelo y la raíz pueden únicamente ser explicadas por la presencia de fuentes de energía y, entonces, de ambientes especiales, pero ni la versatilidad metabólica de un organismo, ni cualquier carácter singular nutricional o fisiológico puede explicar la

selección de ciertas especies (En Walker, 1975).

No es posible dar reglas generales concernientes a la composición cualitativa de los exudados para cada especie vegetal. Esta composición varía:

1.- En función de cada variedad, lo que explica bien la gran especificidad del efecto de rizosfera. 2.- En función del estado de desarrollo de la planta; Vančura y Hovadik (1965) han demostrado a éste respecto, que los cambios más pronunciados se manifiestan en los estados siguientes: del paso de la nutrición de grano a la nutrición fotosintética, floración, y finalmente de fructificación. 3.- En función de las condiciones de cultivo (Dommergues y Manganot, 1970).

Diferentes experimentos con plantas de edad similar creciendo bajo idénticas condiciones de cultivo, demuestran que la cantidad y la calidad de los compuestos exudados difieren considerablemente entre las especies, cada una teniendo una microflora característica de la raíz. La cantidad de nutrimento determina el tamaño de la población, y la calidad determina la naturaleza de la microflora asociada.

Los exudados de una infinita variedad de especies de plantas puede proveer un amplio rango de combinación de sustancias, pero el estudio de tales exudados se encuentra aún en sus primeras etapas.

Estos exudados contienen pequeñas cantidades de una miscelánea de compuestos en los que se incluyen azúcares, aminoácidos, péptidos, enzimas, vitaminas, ácidos orgánicos, nucleótidos y, trazas de varias sustancias con actividades metabólicas específicas, tales como factores de atracción de quistes de nemátodos y de zoosporas fúngicas (Brown citado en Walker, 1975).

La exudación de compuestos con actividad biológica específica (estimulantes o inhibidores) es a menudo tan baja en cantidad que tales compuestos son raramente detectables por técnicas químicas o cromatográficas (Rovira y Davey, citados en Carson, 1974).

Los cálculos de la población microbiana esperada, en base al contenido de energía de los materiales anteriores, están de acuerdo con los recuentos actuales hechos por las técnicas de dilución en placa, aunque estas estiman únicamente parte de la población de la

raíz (Bowen y Rovira, citados en Walker, 1975).

Según Chalvinac (1966) el efecto selectivo de los exudados radiculares sobre la microflora, sería el resultado de la competencia que oponen las cepas de crecimiento lento a las de crecimiento rápido, siendo éstas últimas particularmente favorecidas en la rizosfera.

Las variaciones de concentración de las sustancias biológicamente activas en los exudados radiculares en pudrición, pueden explicar la sucesión de los fenómenos de estimulación o depresión que se observan frecuentemente en ciertos microorganismos, tales como *Azotobacter* o las bacterias nitrificas, Molina y Rovira (1964).

Sanstseovich (1965) menciona que las raíces, en su fase de crecimiento activo (germinación), producen importantes cantidades de sustancias tóxicas que limitan el desarrollo de la colonización de los microorganismos en su superficie (Dommergues y Mangenot, 1970).

Parkinson menciona sustancias del tipo de saponinas, glucósidos y ácido cianhídrico, que tienen efectos tóxicos sobre los microorganismos (En Burges y Raw, 1971).

Además de los materiales orgánicos presentes en la rizosfera, se encuentran materiales inorgánicos en la misma. Así, Evans (1934, 1935) observó que el líquido exudado por las raíces de la caña de azúcar contiene nitratos, amonio y aún nitritos y que esta misma planta tiene capacidad de absorber el nitrógeno principalmente en forma de amonio y nitratos (C. Van Dillewijn, 1952).

Demidenko, citado por Macura (1966) estima que el peso de los exudados radiculares representa el 27 % de la masa vegetal (trigo y tabaco), mientras que Vancura (1961) cita cifras menos elevadas: 7 - 10 % (Dommergues y Mangenot, 1970).

Rovira y Davey consideran que dos puntos deben ser examinados al considerar la naturaleza de los compuestos exudados por la raíz: 1º Bajo condiciones naturales no estériles muchos de estos compuestos simples no se difunden muy lejos antes de ser absorbidos o modificados por la microflora. 2º Las técnicas usadas no detectan los materiales volátiles y los insolubles en agua, que bajo condiciones naturales pueden exceder a los compuestos solubles.

Los mismos autores mencionan que el papel de las sustancias volátiles en el suelo, no se conoce bien; sin embargo, Chododny (1951) y Davey (1954) han demostrado que la acción de los organismos saprofiticos del suelo sobre los residuos orgánicos resulta en la formación de sustancias volátiles las cuales tienen profundo efecto sobre el comportamiento de la raíz (En Carson, 1974).

La atmósfera de la rizosfera está caracterizada por un fuerte contenido en CO_2 , que proviene tanto de la planta como de la microflora. Basándose en la medición del CO_2 liberado en la rizosfera estéril y no estéril, Lundegårdh (1927) admite que el CO_2 liberado proviene en dos terceras partes de la planta y en una tercera parte de los microorganismos.

Es probable que la difusión de O_2 o la posible absorción de CO_2 por las raíces no sean lo suficientemente intensos como para enmascarar el enriquecimiento en CO_2 de la rizosfera debida a la respiración vegetal y microbiana; la rizosfera por consiguiente en general, casi siempre está caracterizada por un déficit en O_2 , que favorece a la desnitrificación y a otros procesos anaerobios en esta zona.

En la zona rizosférica se añaden a los exudados todas las sustancias que provienen de la exfoliación de los tejidos radiculares, tales como células muertas de la epidermis, y de la zona cortical, pelos absorbentes. Estos sustratos favorecen el desarrollo de una microflora especializada, designada por Krasilnikov (1958) bajo el nombre de microflora de las raíces en descomposición y comprenden microorganismos celulolíticos, pectinolíticos y proteolíticos (Dommergues y Mangenot, 1970).

Pearson y Palderson (1961) demostraron que el ápice o sea la zona subterminal de la raíz es la principal fuente de exudados. Sin embargo, Frenzel (1960) menciona que las partes más viejas de la raíz pueden exudar cantidades significativas de compuestos orgánicos. Este autor indicó que la exudación de ciertos aminoácidos en el ápice de la raíz son diferentes a los liberados en la zona pilosa (En Burges y Raw, 1971).

En 1964, Head demostró que los pelos de la raíz están también involucrados en la exudación. Rovira y Davey afirman que cuando las

plantas no tienen pelos radicales debido a que las raíces son micorrizales, el hongo involucrado y el tipo de micorriza deben influenciar los exudados de la raíz (En Carson, 1974).

Ha sido observado que diversos factores afectan la exudación. Vancura en 1964 encontró diferencias entre los exudados de la raíz del trigo y la cebada con respecto a ciertos azúcares (galactosa, glucosa y ramosa), mientras que otros azúcares ocurrieron en cantidades similares en los exudados de ambas plantas. La cantidad, rango, y balance de compuestos en los exudados de la raíz difieren para las diferentes especies de plantas.

Al comparar la composición de los exudados que proceden de raíces de plántulas de arce de azúcar (Acer saccharum) de 3 semanas de edad, con aquellas de un árbol maduro de 55 años de edad, Smith (1970) encontró que las plántulas exudaron muchos azúcares pero considerablemente menos ácidos orgánicos que los árboles maduros (En Carson, 1974).

En una comparación de exudados de semillas de plántulas del trigo, cebada, pepino, y frijol; Vancura y Hanzlířová (1972) encontraron en general, que el nitrógeno total en exudación de semillas estuvo constituido más de proteínas y péptidos que de aminoácidos libres, mientras que lo inverso se reporta en los exudados de raíz, también más azúcares reductores fueron exudados por las raíces que por las semillas (En Walker, 1975).

En 1959, Rovira encontró que la intensidad de luz a la cual las plantas están creciendo afecta la cantidad y el balance de los compuestos exudados dentro de la solución nutriente. El trébol que recibe durante su crecimiento una elevada intensidad de la luz durante el día, exudó más serina, ácido glutámico y alfa alanina que las plantas que crecieron bajo un 60 % de sombra.

La liberación de aminoácidos, especialmente de asparagina a partir de las raíces del trébol subterráneo y los jitomates, aumentó con la elevación de la temperatura. Rovira (1959), Hussain y Mc Keen (1963) observaron que este efecto no es general, ya que en los exudados de plantas de fresa (Fragaria spp) se encontraron más aminoácidos de 5-10 °C que de 20-30 °C de temperatura.

Diferencias en las nutrición de la planta probablemente permitan cambios en los exudados de la raíz, este aspecto no ha sido estudiado con mucho detalle a pesar de su considerable importancia. Bowen (1969) al estudiar plántulas de pino Monterrey, demostró que la nutrición afecta la exudación de los aminoácidos (En Carson, 1974).

Mientras que la atmósfera esté saturada (humedad relativa de 100 %), las plantas pueden exudar por las raíces cantidades importantes de agua (Schippers et coll; 1967, citado por Dommergues y Mangelot, 1970).

En 1955, Katznelson et al pusieron de manifiesto que la marchitez temporal de las plantas provoca un aumento en la emisión de aminoácidos por sus raíces (En Burges y Raw, 1971).

Los microorganismos pueden afectar la exudación de varias maneras, las principales son: a) Afectar la permeabilidad de las células de la raíz, b) Afectar el metabolismo de la raíz, c) Absorber ciertos compuestos de los exudados de la raíz y excretar otros, y d) Alterar los nutrientes aprovechables para la planta.

Martin (1959) reporta que algunos antibióticos (penicilina), aumentaron la exudación de la escopoletina (6-metoxi-7-hidroxicumarina) por las raíces de la avena (En Carson, 1974).

Según diversos autores (Chaminade, 1956; Krassilnikov, 1958; Pauli, 1967) las sustancias húmicas ejercen un efecto favorable sobre el crecimiento de las plantas y su resistencia al marchitamiento (Dommergues y Mangelot, 1970).

Aghinotri (1964) encontró que la aspersión foliar con urea produjo un marcado aumento en la exudación de glucosa, fructosa, glutamina, y alfa alanina, y una disminución en las cantidades de ácidos orgánicos (En Carson, 1974).

Respecto a las sustancias estimulantes o tóxicas, que aparecen en la rizosfera enseguida del proceso de exudación por la planta o de síntesis microbiana, estas son degradadas con relativa rapidez por la microflora de la rizosfera (Dommergues y Mangelot, 1970).

Katznelson y Rouatt (1957) encontraron que el consumo de oxígeno y la evolución de dióxido de carbono son más elevados en el

suelo de la rizosfera que en el suelo control (alejado de la raíz). Ellos consideran que la rizosfera no solamente es más activa, como resultado de los exudados y los residuos de la raíz, sino que tiene mayor actividad metabólica en descomponer la materia orgánica del suelo (En Carson, 1974).

En la rizosfera de la gramínea forrajera (Anthoxanthum odoratum), la cual contiene grandes cantidades de cumarina (frecuente inhibidor natural del crecimiento vegetal), fué encontrado un porcentaje elevado de cepas microbianas capaces de destruir esta sustancia; pues no se encontró cumarina químicamente activa.

Revira y Bowen (1966) han encontrado que las fitotoxinas que aparecen durante la esterilización del suelo por el calor son biodegradadas por numerosos hongos y bacterias de la rizosfera.

Riviere (1964) encontró que las sustancias reguladoras del crecimiento vegetal (fitohormonas), o diversas sustancias estimulantes, son activamente degradadas. Tal es el caso del ácido indol acético (A.I.A.) o de las giberelinas (Dommergues y Mangenot, 1970).

En cuanto a la influencia de los microorganismos sobre la planta, por solubilización, mineralización o inmovilización de los elementos nutritivos, Krassil'nikov (1958) encontró que plantas de cebada no estériles, de 17 días, absorbieron dos veces más fosfato que las estériles, y lo inverso ocurrió con plantas maderables. En ningún caso fué estudiado el consumo en relación al crecimiento de la raíz (En Carson, 1974).

Algunos investigadores (p.ej. Gerretsen, 1948; Píkovskaia, 1948; Krassil'nikov y Kotelev, 1956) han puesto de manifiesto que se produce un aumento en la absorción de fosfato después de la adición de bacterias solubilizadoras de fosfato a plantas cultivadas en suelo estéril, al cual se había incorporado fosfato insoluble.

En el caso de la asociación de micorrizas ectotróficas con las raíces del haya, el papel que desempeña la cubierta fúngica que rodea dichas raíces en la regulación de la absorción de fosfato, ha sido puesto en claro por Harley (1959) (En Burges y Raw, 1971).

Es difícil precisar la importancia de la fijación biológica del nitrógeno molecular en la rizosfera. En lo que concierne a Azotobacter, se piensa actualmente que su acción favorable sobre la planta no se debe atribuir a un enriquecimiento eventual de la rizosfera con nitrógeno combinado, sino al suministro a la planta de sustancias reguladoras del crecimiento, o a la protección contra los microorganismos patógenos (Jackson et coll., 1964; Mishustin, 1966). Se ignora el papel eventual, en cuanto al abastecimiento de nitrógeno, de microorganismos de vida libre fijadores de nitrógeno en la rizosfera, tales como Beijerinckia y otros.

En lo que corresponde al azufre, se sabe que ciertos suelos salinos son muy ricos en sulfatos, presentándose una influencia desfavorable para la planta, cuando el suelo está saturado de humedad por el efecto de la lluvia o de la irrigación, o bien tras un período de insolación intensa seguido de otro intensamente nublado. Es entonces cuando puede presentarse la intoxicación de las plantas, por una acumulación de H_2S . Es en estos suelos donde la difusión de oxígeno es considerablemente lenta, o en los cuales el consumo de oxígeno es particularmente elevado; donde los microorganismos reductores de sulfatos pueden ser sumamente activos. El H_2S , también tóxico para algunos microorganismos y la microfauna de la rizosfera, puede reaccionar con el Fe del suelo, originando la aparición de un precipitado de FeS alrededor de las raíces. Un contenido suficiente de sustancias donadoras de hidrógeno, también, favorece la sulfato-reducción (Dommergues y Mangelot, 1970).

En lo que respecta al aprovechamiento de otros elementos, se ha observado que, en vista del amplio rango de sustancias orgánicas con propiedades quelatantes que son liberados por la raíz, el aprovechamiento de los microelementos puede ser aumentado en la rizosfera. El consumo de Zn en particular podría ser modificado considerablemente por dicha exudación.

La absorción microbiológica del fosfato puede ser de gran importancia, especialmente bajo condiciones deficientes de P. Ella debe depender de la velocidad con que llegue el fosfato a la superficie de la raíz, de la continuidad de la película de microorganismos que la rodean y de su capacidad para absorber y almacenar fosfato,

Barber y Loughman (1967) (En Carson, 1974).

El proceso de la inmovilización del nitrógeno tal vez sea lo suficientemente intenso para que la amonificación sea débil (Dommergues y Mangenot, 1970).

Timonin (1946) encontró que las bacterias oxidantes del Mn, fueron las responsables de la deficiencia de este elemento en plantas de avena. Otros compuestos en los exudados, o microorganismos adicionales a la rizosfera, pueden estar involucrados en el consumo diferencial del Mn (En Carson, 1974).

Trolldenier y Mackwordt (1962) han demostrado que la actividad de los microorganismos de la rizosfera llegó a disminuir el consumo de otros elementos tales como el azufre, calcio y rubidio (En Walker, 1975).

Trabajos recientes han demostrado que los microorganismos externos a la planta compiten con ella por los nutrientes, y afectan el consumo y la translocación de estos (ver revisiones de Barber, 1968, 1969).

La importancia del consumo de los nutrientes de la raíz, especialmente los de baja movilidad, p.ej. fosfato, está aún sin discutir (Nya, 1966) y, por tanto, si la microflora de la rizosfera afecta el crecimiento de la raíz, entonces la nutrición de la planta debe ser afectada. Ciertamente las interacciones entre los muchos organismos y las raíces son muy complejas, por lo que la estimulación o inhibición de la raíz puede esperarse bajo condiciones naturales (En Carson, 1974).

Existe ahora amplia evidencia de que las raíces pueden tomar una amplia variedad de compuestos orgánicos, incluyendo compuestos como el indol, y la región de consumo es probablemente la zona de diferenciación o donde los pelos de la raíz son más abundantes, o sea, la zona donde la microflora de la raíz es también la más abundante. De esta manera, el consumo de A.I.A. aumenta el contenido de auxina de los tejidos (Brown, citado en Walker, 1975).

No se ha demostrado si las sustancias de crecimiento, producidas por la microflora de la rizosfera, son las causantes de los

fenómenos descritos en relación con el desarrollo general de las raíces (Parkinson, en Burges y Raw, 1971).

Reuszer (1949) encontró que la presencia de los organismos afectó las raíces y el follaje de las plantas. Domsh (1963) y Otto (1965) reportaron estimulación y depresión del crecimiento de la raíz para los hongos del suelo.

Barley y Rovira (1970) demostraron que el consumo del fósforo del suelo se aumentó más del 70 % cuando las raíces del chícharo desarrollaron pelos. De manera que los microorganismos pueden destruir la formación de pelos en la raíz y reducirlos en número y longitud, lo que puede ser importante en la nutrición de las plantas que crezcan en suelo con bajo contenido de fosfato.

Rempe y Kaltageva (1965) demostraron que las actividades de algunas enzimas de la raíz y el contenido de clorofila del follaje aumentó con la presencia de los microorganismos de la rizosfera (En Carson, 1974).

Se encontró que las raíces jóvenes del trigo soportan una población de bacterias que inhiben el crecimiento de plantas de lechuga y chícharo; pero esta población disminuye conforme la planta envejece y es reemplazada por una productora de sustancias promotoras del crecimiento, del tipo giberelina.

Cuando se ha tratado de alterar la microflora de la rizosfera de plantas jóvenes, se ha observado que algunas veces los inóculos se multiplican y su número permanece estable hasta que la planta es segada. Los organismos introducidos usualmente a las semillas o a las raíces jóvenes, no son encontrados después de que las raíces envejecen.

Cuando ciertas bacterias fueron usadas como inóculos, fue posible aumentar los rendimientos de las plantas de cultivo, particularmente de horticuivos, tales como: la col, la lechuga o la zanahoria. Los cereales algunas veces responden a estos tratamientos de inoculación, pero los aumentos en los rendimientos son usualmente menores del 10 % (Brown, citado en Walker, 1975).

Los estudios sobre los efectos de Azotobacter y otras bacterias en el crecimiento de las plantas en el suelo natural, y los hallazgos de Chang y Kommandahl (1960) acerca de que las plántulas

del maíz pueden ser controladas por la inoculación de las semillas con Bacillus subtilis, ilustran que la población de la rizosfera puede ser modificada en un grado significativo por inoculación de la raíz o la semilla.

Brown et al (1962) han demostrado que Azotobacter puede ser establecido en la rizosfera de una variedad de plantas, por inoculación de las semillas ó las raíces (En Carson, 1974).

Experimentos con Azotobacter fijador de nitrógeno, para inocular semillas de plantas de cultivo, han sido llevados a cabo en varios lugares (p.ej. Allison et al, 1947; Clark, 1948; Timenin, 1948; y otros). Los resultados obtenidos en la URSS de 1958-1960 ejemplifican su efecto. Unicamente en 8 casos de 23, la Azotobacterina aumentó significativamente la producción (34.4 %) (Mishustin y Shil'nikova, 1971).

Otras bacterias, principalmente especies de Pseudomonas, Clestridium y Bacillus se han usado, en menos casos, como inoculantes. Todas estas bacterias afectaren el cultivo en forma similar, pero sus efectos no se relacionaron con la mineralización sino a productos reguladores del crecimiento.

Pruebas efectuadas por varios investigadores para la producción de reguladores de crecimiento, por las bacterias usadas como inoculantes, han demostrado que todas producen Acido Indol Acético (A.I.A.) y sustancias como la giberelina, lo suficientemente abundantes como para causar cambios en la morfología de las plantas; pero únicamente en trazas, y si se aplican en el estado adecuado de desarrollo de la planta, pueden cambiar el crecimiento completo de la misma (Brown, citado en Walker, 1975).

Los mecanismos por los cuales los microorganismos afectan el crecimiento de las plantas no han sido elucidados todavía, pero se piensa que, como en el caso de Azotobacter, su efecto favorable a ciertas condiciones puede ser debido a la producción de sustancias biológicamente activas. Entre estas tenemos, vitaminas del grupo B: ácido pantoténico y nicotínico, biotina; heteroauxina, giberelina, y fungistáticas (Mishustin, 1970). Sin embargo, Hennequine y Blachère (1966) fueron incapaces para detectar la producción de giberelina

por Azotobacter. No obstante se sabe que, a nivel de especies y aún de razas de Azotobacter, existen diferencias en la producción de compuestos biológicamente activos (Strzelczyk, 1964-1965, citado per Mishustin y Shil'nikova, 1971).

La influencia de Beijerinckia sobre las plantas ha sido raramente considerada, aparte de su papel en la fijación del nitrógeno, existen evidencias de que forma sustancias biológicamente activas (Fallot, 1960). Se ha notado que un cultivo de Beijerinckia y sus extractos indujeron la germinación en tubérculos de topinambour y tejidos en estado de latencia de otras plantas, Fallot (1966) (En Mishustin y Shil'nikova, 1971).

El fracaso de los cultivos de Beijerinckia para sintetizar auxina, Burger y Bukatsh (1958) está aparentemente relacionado con la ausencia de ciertas sustancias necesarias. Brakel y Hilger (1965) encontraron que el triptofano estimula la formación de ácido beta indol acético y beta indol butírico en cultivos de Beijerinckia (Mishustin y Shil'nikova, 1971). A este respecto, otro factor importante para Azotobacter y Beijerinckia podrían ser los microorganismos del suelo inhibitorios o competitivos, así como los patógenos de la planta (Rovira y Davey, citados en Carson, 1974).

Importancia de los exudados de la raíz

Rice (1964) demostró la posible importancia de los exudados al encontrar que los lixiviados de arena en donde se habían desarrollado plantas fueron inhibitorios para Azotobacter y Rhizobium. Este autor observó que las raíces provenientes de semillas de frijol, inculadas, y plantadas en arena en la cual crecieron Ambrosia elatior, Bromus japonicus y Digitaria sanguinalis, mostraron una notable disminución en la nodulación y en el tamaño de los nódulos, en comparación con el testigo. Las plantas que son tóxicas para Azotobacter y Rhizobium crecerán en suelos con un bajo contenido en nitrógeno y, así, su antagonismo hacia las bacterias fijadoras del nitrógeno da a ellas una ventaja competitiva sobre las especies que requieren elevados niveles de nitrógeno en el suelo (En Carson, 1974).

Modificación del medio físico

El mejoramiento de la estructura del suelo bajo algunas for-

naciones vegetales - especialmente las praderas a base de Gramíneas - podría ser debida, en parte, a las sustancias con propiedades de agregación sintetizadas por los microorganismos de la rizosfera. Se ha demostrado que los microorganismos capsulados, o que sintetizan sustancias gomosas, son más abundantes - en valor absoluto y quizás también en valor relativo - en la rizosfera de algunas plantas (Gramíneas) que en el suelo fuera de la rizosfera (Dommergues y Manganot, 1970).

Importancia del valor R:S (Rizosfera:Suelo)

Como se mencionó antes, el término "relación R:S" se obtiene de comparar el número de microorganismos por unidad de peso, en el suelo de la rizosfera con el que se encuentra en el suelo distante de las raíces; y representa el estímulo ejercido por las raíces sobre el desarrollo microbiano (efecto de rizosfera).

Clark(1947) encontró que la relación R:S de plantas idénticas puede variar de manera considerable, simplemente variando la cantidad de suelo adherido sobre las raíces en el tiempo de suspensión en el diluyente. Aunque hay poca duda que la relación R:S expresa el grado en el cual las raíces influyen la microflora del suelo, se requiere de precaución para evitar que durante la manipulación de la muestra se altere la relación. Considerando la mayor concentración de microorganismos en la superficie de la raíz, es obvio que el vigor con el cual se agite la muestra debe afectar marcadamente la relación R:S. Cuando una pequeña cantidad de suelo es incluida con las raíces en la muestra de rizosfera, se obtiene una relación R:S más elevada que cuando una gran cantidad de suelo permanece sobre las raíces.

Numerosas publicaciones están reportadas sobre las bases de la relación R:S, pero es difícil hacer comparaciones válidas entre los resultados de diferentes investigadores, por las diferencias en sus procedimientos de muestreo, métodos y medios de cultivo.

Debido a la naturaleza heterogénea de la rizosfera, es improbable que pueda encontrarse un método de muestreo simple y preciso. Probablemente, la manera más satisfactoria de medir la influencia de la raíz sobre su población debe ser en términos del número de microorganismos por unidad de área de superficie de raíz; desafortunadamente la metodología para esta determinación y expresión no parece haber

sido todavía desarrollada.

Revira y Stern (1961) encontraron menos variación cuando los resultados fueron expresados sobre las bases de peso de raíz, que sobre las bases de peso de suelo (En Carson, 1974).

Efecto de rizosfera

Cooky Lochhead (1959) considera que la mayoría de las relaciones R:S varían de 5-20, dependiendo de la especie de planta y su edad (En Walker, 1975).

En términos generales, las bacterias son más fuertemente estimuladas por el efecto de la raíz que los actinomicetos, hongos, algas e protozoarios. El efecto de rizosfera del trigo sobre diversos grupos de microorganismos, demostrado por Katznelson et al (1956), ilustran bien este hecho. La densidad de bacterias en la rizosfera alcanzó un número de 1,121,000,000 que, comparado con las 52,700,000 bacterias del suelo de fuera de la influencia de la raíz, representa un valor R:S igual a 21. Los amonificantes alcanzaron la más elevada densidad en la rizosfera, con un número mayor de 100,000,000 y de 1,800,000 en el suelo alejado de la rizosfera, lo que representa un R:S mayor de 50. Los desnitrificantes le siguieron en grado de estimulación con una cantidad de 12,650,000 en la rizosfera y de 140,000 fuera de ella que, expresado en términos de la relación R:S, alcanza un valor de 90. Los hongos constituyen el siguiente grupo estimulado, con una densidad de 1,600,000 en la rizosfera y de 120,000 fuera de ésta, alcanzando un R:S de 9.6 (Dommergues y Mangenot, 1970).

Bacterias

Con frecuencia se encuentran reportes tan elevados como de 100 para las bacterias en la literatura sobre las relaciones R:S. Más comúnmente la relación R:S para éstos microorganismos varía entre 5 y 20. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que la relación R:S no es una cantidad absoluta, ya que es dependiente del tipo de suelo, sistema de raíz y manipulación de la muestra.

Rivière (1960) demostró que la relación R:S para el trigo fué afectada por el estado de desarrollo de la planta. Martin (1971a) en sus experimentos con trigo, centeno (Lolium rigidum) y trébol

subterráneo (Trifolium subterraneum), demostró que en cada especie de planta el máximo desarrollo de las bacterias ocurrió en el estado de floración. Los resultados de Rivière y Martin demuestran que, aparte de los problemas de técnica y muestreo, puede haber errores al comparar los diferentes efectos de rizosfera de diferentes especies de plantas sobre las bases de la relación R:S; a menos que sean tomadas en varios estados de desarrollo de las plantas (En Carsen, 1974).

Los efectos de la humedad del suelo han sido estudiados de forma irregular; probablemente debido a las dificultades técnicas que presenta el cultivo de plantas en regímenes hídricos constantes y conocidos. Clark y Thom (1939) han puesto de manifiesto que entre límites de humedad de 12 a 20 % los valores de R:S no varían (R:S=9), pero con una humedad de 24.5 % el valor de R:S cae a 4.5 %. Timonin (1940) hizo notar que en suelos en los que el contenido en humedad era del 30 %, de la capacidad total, se daban poblaciones de la rizosfera superiores; respecto a donde el contenido en humedad era de un 60 %. Clark (1948) puso también de manifiesto que las densidades de microorganismos eran más altas junto a las raíces de los suelos más secos, en comparación con los correspondientes a suelos más húmedos (En Burges y Raw, 1971).

Döbereiner (1961) encontró una relación R:S en la caña de azúcar, de 18 meses de edad, en agar albúmina de huevo de 0.2 en la superficie de la raíz, y de 0.4 en la rizosfera para las bacterias.

Sin embargo, no parece posible todavía establecer ninguna generalización real sobre los efectos detallados de una cierta especie de planta cultivada, sobre las bacterias del suelo. Lochhead (1959) afirma que "...aunque se han hecho algunas indicaciones acerca de que algunos cultivos pueden ejercer sus efectos en grados diversos (En Burges y Raw, 1971).

Se ha comprobado que las raíces estimulan selectivamente las especies de bacterias Gram - negativas, las cuales son caracterizadas por su rápida velocidad de crecimiento, respuesta a los aminoácidos y a la glucosa para su desarrollo, la producción de ácido a partir de la glucosa, y la resistencia a ciertos antibióticos (Rovira y

Davey, citados en Carson, 1974).

Generalmente las bacterias Gram - negativas no formadoras de esporas, resultan estimuladas en su desarrollo en el suelo de la rizosfera p.ej. Agrobacterium radiobacter. Asimismo, en años recientes, se ha demostrado que diversas especies de Pseudomonas son abundantes en la región radical, y se ha visto que constituyen entre un 40 % y un 50 % de la población bacteriana de algunas rizosferas (Vagnerova et al., 1960; Rouatt y Katznelson, 1961). También, se han citado con regularidad diversos mycobacterias y corynebacterias como formas estimuladas en el seno de las rizosferas. Contrastando con estos ejemplos de estimulación, existen referencias en el sentido de que diversas especies de Bacillus están presentes con mayor frecuencia en las rizosferas que en el suelo distante de las raíces de las plantas (Clark, 1940; Krassil'nikov, Kriss y Litvinov, 1936; Lochhead, 1940), aunque dentro de este género, Bacillus brevis, B. polymyxa y B. circulans fueron citados por Clark (1940) como: "formando parte de fracciones más importantes de la población de Bacillus en la rizosfera que en el suelo". Clark (1940) también puso de manifiesto que el desarrollo de cocos Gram - positivos en el seno de la rizosfera disminuye, pues en ella representaba solamente un 12 % de las especies aisladas frente a un 40 % de los procedentes de suelo alejado de las raíces.

Parkinson (1971) menciona que los microorganismos móviles, cronógenos, amonificantes, desnitrificantes, que licúan la gelatina, los que viven en medios con glucosa - peptona y los aerobios celulolíticos, se encuentran todos ellos en número más elevado en las rizosferas que en el resto del suelo. Por otra parte, los microorganismos nitrificantes, los celulolíticos anaerobios y los anaerobios fijadores de nitrógeno (p.ej. Clostridium sp.) presentan una disminución del crecimiento en el seno de la rizosfera (En Burges y Raw, 1971).

Krassil'nikov (1958) llegó a la conclusión de que ciertas especies de angiospermas estimulan el crecimiento de Azotobacter en el suelo, otras lo inhiben, y otras más no ejercen sobre él efecto alguno.

Gillenberg (1957) ha publicado que la flora bacteriana de la

rizosfera, una vez establecida en la fase de plántula, se mantiene cualitativamente parecida (aunque aumentado cuantitativamente) desde la fase de plántula hasta la madurez; aunque, cualitativamente, difiere de la flora bacteriana del suelo alejado de las raíces. Después de la madurez, la población bacteriana de la rizosfera cambia, y se desarrolla una población parecida a la del suelo ajeno a la rizosfera (En Burges y Raw, 1971).

Louw y Webley (1959) encontraron, en un recuento en placa, que únicamente cerca del 10 % de las bacterias del suelo crecieron sobre agar no selectivo, mientras que hasta el 72% de las bacterias de la rizosfera crecieron sobre el mismo medio. Probablemente, este indique más difíciles requerimientos nutricionales de las bacterias del suelo, lo que significa que nosotros podemos estudiar únicamente aquellas que crecen sobre el medio de cultivo utilizado en el laboratorio (En Carson, 1974).

Actinomicetos

Es generalmente aceptado que las raíces estimulan los actinomicetos menos que a las bacterias. Los problemas para calcular su número en la rizosfera son similares a aquellos involucrados en contar las esporas de los hongos (Rovira y Davey, citados en Carson, 1974).

El efecto de rizosfera en la caña de azúcar de 18 meses de edad para los actinomicetos alcanzó un valor R:S de 0.1 en el suelo de la superficie de la raíz, y de 1.0 en el suelo de la rizosfera (Döbereiner, 1961).

Si algunos de los actinomicetos producen cantidades significativas de antibióticos, en los niveles nutricionales encontrados en la rizosfera, entonces pueden jugar un papel importante como modificadores de las poblaciones bacterianas de la rizosfera.

Straelczyk (1961) encontró que una gran proporción de los actinomicetos aislados de la rizosfera del trigo, rábano (Raphanus sativus), y cebolla fueron más antagonistas para Azotobacter que aquellos aislados del suelo alejado de la rizosfera (Rovira y Davey, citados en Carson, 1974).

Los antibióticos pueden jugar, principalmente, un doble papel; primero, proteger el vegetal contra la invasión de los microor

ganismos patógenos y segundo, modificar la fisiología de la planta. La protección del vegetal contra los microorganismos fitopatógenos es posible, a condición de que el antibiótico (de cualquier microorganismo) presente las cualidades siguientes:

- a) Ser activo frente al agente patógeno en el interior de los tejidos
- b) Que penetre fácilmente en los tejidos
- c) Que no sea inactivado rápidamente
- d) No ser tóxico para la planta, Rainikov (1958).

Tal es el caso de la griseofulvina sintetizada por Penicillium nigricans y P. griseofulvum. Este antibiótico es bien absorbido por el tomate y la lechuga y los protege eficazmente contra los ataques fúngicos, Brian et coll (1955).

Los antibióticos pueden también modificar el metabolismo de la planta y notablemente inhibir o estimular algunas fases del crecimiento. La estimulación de la germinación y del crecimiento por los antibióticos está lejos de ser establecida. Por el contrario, la inhibición del crecimiento de las plantas ha sido demostrada con certeza para numerosos antibióticos p.ej. la inhibición de la elongación radicular del pepino por 3 antibióticos (Norman, 1960, citado por Dommergues y Mangenot, 1970).

La posibilidad de que los antibióticos de origen microbiano, producidos en la región radical, puedan ser absorbidos por las raíces de la planta y transportados en su interior hasta llegar a actuar de una forma sistemática en contra de ciertos agentes patógenos, ha atraído la atención de diversos investigadores (Pramer, 1954; Crowdy y Pramer, 1955; Brian, 1960). Sin embargo, si la producción de antibióticos tiene lugar en la región radical, es probable que tenga efectos deletéreos sobre la fisiología de la raíz. Aún a bajas concentraciones, se ha observado que un cierto número de antibióticos originados por hongos, actinomicetos y bacterias, limitan el crecimiento de la raíz (Norman, 1960a) o dañan las células radicales y provocan una pérdida de solutos que escapan de las raíces de forma irreversible (Norman, 1959, 1960, a,b). Este último efecto es debido a diversos antibióticos de tipo polipeptídico (En Burges y Raw, 1971).

Hongos

Starkey (1929 a,b,c) encontró que la cantidad de hongos aumenta en las rizosferas mucho menos de lo que ocurre con las bacterias.

El uso de la técnica de siembra en placa, de una dilución de suelo, para estudios de los hongos de la rizosfera puede ser objeto de crítica más severa (Parkinson, 1957; Parkinson y Moreau, 1959) puesto que permite la apreciación de la capacidad de esporulación de las especies, que en el suelo de la rizosfera podrían considerarse activas previamente, y nos da poca luz acerca del problema más que la determinación de la cantidad de micelio activo que se encuentra presente en la rizosfera. Un punto suplementario se agrega a estas críticas a consecuencia de la consideración de diversos investigadores (Agnihotru, 1955; Parkinson, 1957) de que la rizosfera es una zona en la cual los hongos se encuentran presentes, principalmente en forma de micelio, mientras que en el suelo alejado de las raíces están, principalmente, presentes en forma de esporas. Además, los valores R:S calculados para los hongos deben tener poco significado a causa de la forma filamentososa en que crecen estos organismos.

El estudio sobre el efecto de la rizosfera en hongos, exige el empleo de técnicas nuevas creadas para el aislamiento de estos organismos existentes en la rizosfera en forma de micelio activo (Parkinson, citado en Burges y Raw, 1971).

Katznelson (1960) cita relaciones R:S de 10 y 19 para los hongos del trigo y remolacha ferrajera (Beta vulgaris) respectivamente, pero estas cantidades fueron obtenidas por el método de la dilución estandar (En Carson, 1974).

Döbereiner (1961), observó una relación R:S para los hongos de 0.7 tanto en la superficie de la raíz como en la rizosfera de la caña de azúcar de 18 meses de edad.

Parecen existir pocas diferencias cualitativas entre los hongos del suelo de la rizosfera y los del resto del suelo (Webley, Eastwood y Gimmingham, 1952; Gomolyako, 1956, 1957, 1958; Khalabuda, 1958; Peterson, 1958; Chesters y Parkinson, 1959; y otros) (En Burges y Raw, 1971).

Parkinson et al (1963) han demostrado una sucesión de los hongos con la edad de la raíz; no únicamente los hongos llegaron a ser más abundantes en las partes más viejas de la raíz, sino que las especies cambiaron. Estos autores encontraron que conforme la raíz crece a través del suelo hay una sucesiva colonización de la raíz procedente del suelo; la punta de la raíz esta casi libre de hongos, la zona detrás de la punta contiene los colonizadores casuales, y las partes más viejas de la raíz soportan hongos más especializados, y formas oscuras estériles.

Existe amplia evidencia de que la proximidad de las raíces de las plantas estimulan la germinación de esporas de muchas especies de hongos no patógenos en estado latente en el suelo. Aunque la estimulación de la germinación de las esporas de los hongos puede en muchos casos no ser específica, el crecimiento de los hongos puede a menudo ser relativo; p.ej. Ragaswami y Balasubramanian (1963) encontraron que la exudación de ácido hidrocianico de las raíces del sorgo (*Sorghum bicolor*) inhibió el crecimiento de *Helminthosporium turcicum* Pass. y *Fusarium noniliforme* Sheld pero no otros hongos como *Aspergillus* sp. (En Carson, 1974).

Poco se sabe en relación con el papel de los hongos de la superficie radical. Muchos investigadores consideran que tienen un papel pasivo en la absorción de los exudados radicales. Sin embargo, algunos investigadores opinan que la colonización de las raíces por los hongos debe influir sobre el metabolismo de las células radicales, así como el que ciertos hongos de la superficie radical (p.ej. *Fusarium oxysporum*) actúan como organismos micorrizicos (Dorokhova, 1953; Bilal, 1955; Khruscheva, 1960) (En Burges y Raw, 1971).

El mecanismo de la competencia juega un papel importante en la protección de las plantas contra los patógenos. De esta manera, se ha demostrado que las bacterias de la rizosfera y del suelo pueden limitar el crecimiento de un hongo de la raíz de la alfalfa, utilizando para su provecho la tiamina y los alimentos minerales los cuales le son privados al hongo (Dommergues y Manganot, 1970). Garret (1939) logró la infección de raíces de plántulas de trigo con las esporas de *O. graminis* en arena estéril, pero no en arena no estéril.

Sin embargo, hace falta todavía un gran volumen de trabajo dedicado a las posibilidades de alterar las poblaciones de la rizosfera, de tal modo que se puedan eliminar los diversos agentes patógenos de origen edáfico de la región radical (Parkinson, 1971).

Ramachandra - Reddy (1959) demostró que la aspersión foliar, aplicada a plantas de arroz, producía cambios cuantitativos en los componentes constituidos por bacterias, actinomicetos y hongos de la microflora de la rizosfera. Horst y Herr (1962) observaron que el tratamiento con urea a las hojas del maíz conducía a un incremento de los actinomicetos de la rizosfera antagonista de Fusarium roseum F.cerealis durante la primera semana después de su aplicación.

El hecho de que las aplicaciones foliares de ciertas sustancias químicas (herbicidas, insecticidas, fungicidas, etc) proveen cambios cualitativos y cuantitativos en la microflora de la rizosfera indica que éste es un método experimental importante en el estudio de la ecología de los microorganismos que viven en la región radical (rizosfera + rizoplana), mediante el cual se puede intentar la reducción de los microorganismos que producen infecciones en la raíz (Parkinson, citado en Burges y Raw, 1971).

Amonificación

Rouatt et al (1966) consideran que las relaciones R:S de las bacterias amonificantes a menudo exceden de 50 y, como consecuencia, el suelo de la rizosfera tiene un elevado potencial para la liberación de amonio (En Carson, 1974).

Nitrificación

El proceso de nitrificación es afectado de manera diferente por las raíces de varias especies de plantas. Theron (1951) reporta que las raíces de los pastos son responsables de la inhibición de la nitrificación, lo cual explica los bajos niveles de nitrato en los suelos de pasto permanente (En Carson, 1974).

Se admite que la nitrificación sea poco intensa en la rizosfera, porque la relación R:S concerniente a los microorganismos nitrificantes es frecuentemente inferior a 1 e ligeramente superior a 1. Esta débil actividad en la rizosfera se atribuye a :

1.- La inhibición por sustancias tóxicas (Theron, 1951; Soullides y

Clark, 1958; Munro, 1966).

2.- Al débil contenido de iones amonio (NH_4^+) en la rizosfera (Macura, 1966) resultante, a la vez, de la absorción de este ión por la planta y a la inmovilización por los microorganismos (Molina y Rovira, 1964) (Citados por Dommergues y Mangenot, 1970).

Desnitrificación

Woldendorp (1963) demostró que del 15 al 37 % del fertilizante nitrogenado fué volatizado cuando se aplicó en pastizales permanentes bajo capacidad de campo; las pérdidas del fertilizante a base de nitrato resultan ser el doble de aquellas en la que se usa fertilizante amoniacal. El atribuyó esta mayor desnitrificación en las rizosferas de las plantas a tres factores: un número más elevado de bacterias desnitrificantes; el más elevado consumo de oxígeno; y la exudación de donadores de hidrógeno por el sistema de la raíz (En Carson, 1974).

Relación Caña de Azúcar - Beijerinckia

En los últimos años, se han realizado algunos trabajos relacionados con el estudio de los fijadores de nitrógeno restringidos a los ambientes tropicales, debido a que ciertos pastos presentan efectos altamente estimulantes para algunos microorganismos. La asociación de la Caña de Azúcar con Beijerinckia sp. y aquella de Paspalum notatum con Azotobacter paspali son los casos más notables (Döbereiner, 1968).

La estimulación de Beijerinckia por la caña de azúcar, puede ser explicada por el enriquecimiento del suelo con la sacarosa liberada por la raíz. Fuera de la rizosfera, la relación R:S varía entre 2 y 23; para la rizosfera próxima, los valores extremos son de 14 y 26 (Döbereiner, 1961).

La lluvia que cae sobre las hojas, presumiblemente, debe escurrirse al suelo llevando en solución el azúcar que se convierte en una fuente de energía para la fijación del nitrógeno, en el suelo ajeno a la raíz (Döbereiner, Day y Dart, 1972).

El metabolismo del nitrógeno en la rizosfera es un proceso muy complicado, en vista de que en él participan diversos factores ambientales. El efecto de las diferentes formas químicas combinadas de este elemento sobre la capacidad de fijación de nitrógeno no es

muy clara para estos microorganismos (Peña y Döbereiner, 1974).

Varios experimentos de campo con caña de azúcar demuestran poca o ninguna respuesta a la fertilización nitrogenada y cálculos de balance de nitrógeno junto con pruebas de nitrógenasa sugieren que la fijación de nitrógeno no simbiótica, asociada a la raíz, contribuye en mucho a su nitrógeno (Dart y Day, citados en Walker, 1975).

En la caña de azúcar asociada con Beijerinckia, además de la fijación en la superficie de las raíces, se observó fijación de N_2 en el suelo, sumando una actividad del conjunto planta - suelo hasta de 50 kg de N/ha/año (Döbereiner, Dart y Day, 1973).

Por cada gramo de material rico en energía usada, esta bacteria fija entre 16 y 20 mg de nitrógeno molecular (Jensen 1954; Kluyver y Becking, 1950). Se ha reportado que la actividad de fijación de N_2 en cultivos de B. indica y B. fluminensis aumenta considerablemente en presencia de la levadura oligonitrófila Lipomyces starkey, aislada del mismo suelo tropical como Beijerinckia, Demergues y Mutafschief, (1965) (En Mishustin y Shil'nikova, 1971).

Spiff y Odu (1972) reportan que organismos aerobios como B. indica pueden fijar nitrógeno, aún bajo condiciones parciales o completamente anaerobias en ambientes naturales.

Su mucflage se descompone muy lentamente; echo semanas después de la introducción en suelo ácidos e neutros. Los polisacáridos del mucflage son altamente tóxicos para varios microorganismos, Döbereiner y Ruschel (1964).

La mayoría de las células de Beijerinckia están concentradas en la capa superior del suelo (0-20 cm) pero su desarrollo es posible hasta los 100 cm (Emtsev y Gogirikidza, 1966). Parecen ser más características de los suelos ácidos cultivados que de los suelos vírgenes; mientras que los suelos de pradera vírgenes contienen más células que los forestales (En Mishustin y Shil'nikova, 1971).

Azotobacter y Beijerinckia no siempre se encontraron en mayor número en las capas superficiales en algunos perfiles del suelo de la zona húmeda de Pernambuco (Bezerra y Bezerra, 1969).

La distribución de Beijerinckia en los suelos está regulada,

no únicamente por la densidad y contenido de humedad sino, también, por una serie de factores peculiares al suelo dado (Strydom, 1966). Como regla general, Beijerinckia está asociada con suelos lateríticos tropicales y no con suelos aluviales tropicales, Kluyver y Becking (1955). En los suelos lateríticos, iones de hierro, aluminio, titanio y manganeso se acumulan en sus capas superiores, como resultado del proceso de laterización. El hierro está frecuentemente en la forma de sesquióxidos o concreciones de hematita café. El fósforo está firmemente fijado en un complejo con el hierro. El contenido de calcio, magnesio, potasio y sodio en estos suelos es insignificante. Las características fisiológicas de Beijerinckia reflejan estas condiciones (En Mishustin y Shil'nikova, 1971).

Algunos factores externos

La aplicación de abonos minerales o/y orgánicos, tal vez, no ejerce acción sobre las poblaciones de la rizosfera. Pero, lo más frecuente, es que ella induzca a una estimulación, que se manifiesta por un aumento de la densidad absoluta de los microorganismos de la rizosfera. Este aumento de la densidad puede ir a la par con una disminución de la relación R:S, si la fertilización estimula al mismo tiempo más fuertemente la microflora del suelo fuera de la rizosfera. La acción de los fertilizantes se ejerce, a la vez, directamente sobre la microflora o indirectamente por intermedio de la planta, en donde la nutrición es mejorada. Lo mismo que los elementos mayores, los oligoelementos pueden inducir una estimulación de la microflora rizosférica; tal estimulación ha sido obtenida con aplicaciones de Mn, Zn, B sobre el algodón, Sadasivan (1965).

Existen pocos datos sobre la influencia de la naturaleza del tipo pedológico sobre la intensidad del efecto de rizosfera. Algunas publicaciones consagradas a éste problema, resaltan que las relaciones R:S serían completamente más elevadas en los suelos pobres en elementos fertilizantes minerales (Katznelson y Slrzeczyk, 1961; Balloni y Materassi, 1966) o pobres en coloides orgánicos y en los suelos áridos. En cuanto que el enraizamiento de los vegetales sea muy denso y repartido uniformemente en el suelo dado - como es el caso de las praderas permanentes -, parece ser que el suelo presenta-

rá los caracteres de la rizosfera de la planta en cuestión, y la relación R:S tenderá a ser 1 (En Dommergues y Manganot, 1970).

Importancia de la fijación biológica del nitrógeno

Se sabe que el nitrógeno es útil a los seres vivos únicamente, en forma fijada o combinada, ya que como se le encuentra en la atmósfera ($79\% \text{N}_2$) es casi inerte. Para combinarlo con otras sustancias como lo es el hidrógeno (H_2) que es generalmente obtenido del metano (CH_4), principal constituyente del gas natural, y obtener amoníaco (NH_3) por el proceso Haber, para la producción de fertilizantes nitrogenados, se consume gran cantidad de energía (eléctrica, térmica, etc). En dicho proceso el costo del amoníaco es elevado (Safrany, 1974).

Según Kolar y Greenland (1961) la producción agrícola mundial extrae del suelo cerca de 100 - 110 millones de toneladas de nitrógeno por año, mientras que la industria química mundial produce alrededor de 14.5 millones de toneladas anualmente (1963 - 1964) (Mishustin y Shil'nikova, 1971).

Debido a la actual crisis mundial de los energéticos y el elevado costo del proceso de síntesis de amoníaco, junto con los crecientes problemas por los que atraviesan la mayoría de los países en desarrollo, muchos con una explosión demográfica que crece en desproporción a la productividad agrícola, se acrecienta la necesidad de producir fertilizantes nitrogenados a un costo más bajo. Una solución auxiliar podría ser la utilización de los mecanismos biológicos capaces de fijar el N_2 atmosférico (Safrany, 1974).

Según Ralph, Hardy y Du Pont la fijación de nitrógeno no biológica mundial es de 80 millones de toneladas métricas por año, mientras que la cantidad de nitrógeno fijado biológicamente es de 175 millones de toneladas métricas, que en su conjunto representa un total de 255 millones de toneladas métricas de nitrógeno por año (Citados por Skinner, 1974).

En la actualidad se ignora el potencial de los pastes templados para estimular la fijación de nitrógeno en sus rizosferas. Los dos sistemas de fijación de nitrógeno no simbiótico en regiones

templadas, son las bacterias ligadas a la rizosfera de varias plantas dicotiledóneas y unas pocas monocotiledóneas, y las algas azul verdes que crecen sobre la superficie del suelo y en el agua. Para los suelos tropicales la contribución de la fijación de nitrógeno no simbiótica, puede ser considerable, principalmente aquella asociada con cereales de uso agrícola, Dart y Day (1975).

Según Dalton (1974) aproximadamente en 47 especies de bacterias que proceden de 12 familias ha sido demostrada su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico, las cuales se encuentran en muchos hábitats, incluyendo el agua, y representan una variedad de organismos Gran - negativos y positivos, aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, formadores de esporas y de quistes, fotosintéticos y oxidantes de metano no fotosintéticos así como organismos reductores de sulfatos. Sin embargo, no es claro todavía cuales bacterias están más involucradas en la fijación del nitrógeno en las rizosferas. Según Dalton (1974) Fogg, Stewart, Fay y Walsby (1973), existen 18 géneros de algas azul verdes capaces de fijar nitrógeno; debido a la amplia distribución de los organismos fijadores de nitrógeno en los suelos, parece ser que la perspectiva de beneficiar a partir de la inoculación de semillas es remota. El principal factor limitante parece ser el aprovechamiento de carbohidrato en la raíz de la planta, Dart y Day (1975).

Se han encontrado bacterias fijadoras de nitrógeno en muchos suelos tropicales ácidos, en los cuales Beijerinckia y Clestridium sp. son las especies más comunes, y Azotobacter chroococcum resulta ser muy escaso, Becking (1961), Döbereiner y Day (1975).

B. indica y B. fluminensis son comunes en suelos tropicales, y demuestran un marcado efecto de rizosfera en algunas plantas, Döbereiner (1961), Döbereiner y Campêlo (1971).

En la mayoría de los más importantes pastos tropicales procedentes de varios países en los 3 continentes, se ha encontrado una considerable actividad nitrogenásica en sus rizosferas, Brown (1975).

Algunos cereales tropicales también estimulan la actividad nitrogenásica, siendo el arroz la planta más activa, con fijación

por bacterias sobre la superficie de su raíz (Kaliniskaya, Rao, Velkova e Ippolitov (1973), Rinaudo, Balandreau y Dommergues (1971), Yoshida y Ancajas (1973); citados por Brown, 1975). Además, algas azul - verdes fijadoras de nitrógeno son comúnmente encontradas en arrozales, Watanabe y Yamamoto (1971) (Citados en Walker, 1975).

Es posible que, en el futuro, el uso de los microorganismos como fertilizantes nitrogenados para la agricultura, adquiera considerable importancia, en vista de que la cantidad de nitrógeno fijado por los sistemas planta - microorganismo puede ser aumentada. Mejores y quizás nuevas relaciones simbióticas entre las plantas y los microorganismos puedan ser desarrolladas. Es posible que mutantes de microorganismos, que usen desechos orgánicos o luz solar como su fuente de energía, puedan servir algún día como "fábricas biológicas de amoníaco" (Skinner, 1976).

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

A.- MUESTREO

Se colectaron muestras de raíz correspondientes a 10 diferentes plantas de caña de azúcar, de las cuales las 5 primeras pertenecen al Municipio de " Dos Rios ", y las 5 restantes al Municipio de " Emiliano Zapata ". En ambos lugares se perforaron pozos edafológicos.

Del pozo N° 1 (Dos Rios), se tomaron muestras de suelo de 0-20, 20-40 y de 40-50 cm de profundidad. Del pozo N° 2 (Emiliano Zapata), fueron tomadas de 0-15 y de 15-60 cm de profundidad.

Tanto las plantas como las muestras de suelo para el análisis microbiológico, fueron colectadas en bolsas de polietileno y frascos de vidrio estériles, respectivamente.

Para la obtención del suelo de rizosfera 1, las raíces de las plantas fueron sometidas a sacudidas energéticas, recuperando así el suelo, en recipientes adecuados. El suelo firmemente adherido a las raíces, suelo de rizosfera 2, fué desprendido asépticamente con una espátula.

Las muestras representativas, para los análisis correspondientes, de los suelos de la rizosfera uno y dos, se obtuvieron mediante el mezclado y homogenizado del suelo extraído de 5 plantas diferentes, procedentes de cada uno de los sitios de muestreo.

Todas las muestras para las determinaciones microbiológicas fueron mantenidas en refrigeración. Para los análisis fisicoquímicos el suelo fué secado al aire y tamizado en malla del N° 20.

B.- DETERMINACIONES FISICAS Y QUIMICAS

- a) Color .- Se determinó en seco y en húmedo por comparación con las tablas de Munsell (1954).
- b) Densidad Aparente .- Por el método de la probeta, Thompson (1965).
- c) Densidad Real .- Por el método del picnómetro, Thompson (1965).
- d) Textura .- Por el método de Bouyoucos (1963).
- e) Porosidad .- Se determinó en forma indirecta, a partir de la Densidad Real y la Densidad Aparente.
- f) Reacción del suelo .- Por el método potenciométrico, para lo cual

se utilizó un aparato marca Corning, Modelo 10, empleándose relaciones de agua - suelo y sol. KCl - suelo, 2.5 : 1, Jackson (1964).

g) Capacidad de Intercambio Catiónico Total.- Por el método de centrifugación, saturando la muestra con cloruro de calcio, 1 N a pH 7; lavando con alcohol etílico; eluyendo con cloruro de sodio 1N a pH 7; y titulando el calcio con Versenate 0.02 N, Jackson (1964).

h) Materia Orgánica.- Por el método de Walkley y Black modificado por Walkley (1947).

i) Nitrógeno Total (Sin incluir nitratos).- Mediante el método de Kjeldahl, A.O.A.C. (1970).

j) Na^+ y K^+ .- Por el método flamométrico utilizando un flamómetro marca Evans.

k) Ca^{++} y Mg^{++} .- Extracción con acetato de amonio 1 N a pH 7, mediante centrifugación y titulación con EDTA.

l) Fósforo Asimilable.- Por el método colorimétrico Bray I, azul molibdofosfórico, con un colorímetro marca Coleman, Junior, Mod. 6A.
C.- DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS

A partir del suelo de rizosfera y del suelo no influenciado por la raíz de la caña de azúcar, se cuantificó el número de microorganismos, utilizándose el método de las diluciones del suelo en placa (bacterias, actinomicetos, hongos y fijadores libres de nitrógeno), y por la dilución límite y las tablas de Mc Crady (1946), el número más probable (NMP) de microorganismos amonificantes, nitrificantes, desnitrificantes, celulolíticos y reductores de sulfatos.

Los medios de cultivo selectivo fueron los siguientes:

a) Microflora Total.- El medio de cultivo empleado, para las bacterias y actinomicetos, fué el extracto de suelo - agar, Bunt y Revira (1955); y el medio de Rosa de Bengala - Estreptomycin - agar para los hongos, Martín (1949).

b) Microorganismos del Ciclo del Carbono.- Para los celulolíticos, se usó el medio de Dubos (1928).

c) Microorganismos del Ciclo del Nitrógeno.- Para los fijadores libres de nitrógeno atmosférico, se utilizó el medio de Lipman (1963). Se prepararon medios selectivos de cultivo para amonificantes, Katznelson (1947), nitrificantes (Nitrosomonas sp. y Nitrobacter sp.),

Barkworth (1965) y desnitrificantes, Timonin (1946).

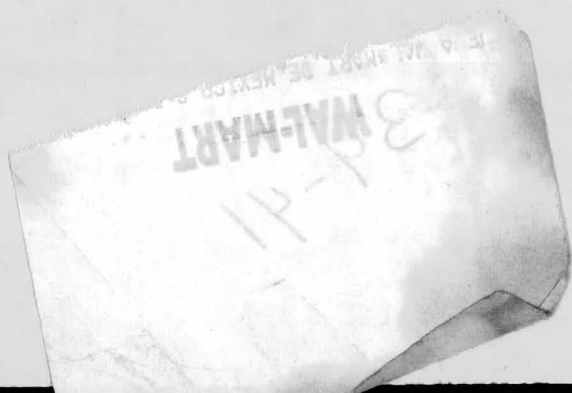
d) **Microorganismos del Ciclo del Azufre** .- Se empleó el medio de Starkey Modificado, citado por Garassini (1950) para los reductores de sulfatos.

Para cada medio selectivo se prepararon 5 placas por dilución, o bien 5 tubos por dilución, respectivamente. Se utilizó un ml de inóculo para cada placa y tubo.

Periodo de Incubación:

Bacterias	8 días
Actinomicetos	9 "
Hongos	5 "
Amonificantes	12 "
Nitrificantes	28 "
Fijadores libres de nitrógeno	5 "
Celulolíticos	30 "
Reductores de Sulfatos	9 "

Todas las muestras inculadas fueron incubadas a 28 °C.



IV .- RESULTADOS Y DISCUSION

JUADRO 1.- ALGUNAS PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE LOS SUELOS.

SUELO	PROFUNDIDAD EN cm	CLAVE	COLOR SECO	CLAVE	COLOR HUMEDO	D.A.	D.R.	ARENA %	LIMO %	ARCILLA %	TEXTURA	POROSIDAD %	pH H ₂ O	rel.1:2.5 KCl	C.I.C.T. meq/100g	CATIONES SOLUBLES meq/l				FOSFORO ASIMILABLE Kg/Ha	M.O %	N.T. %	Rel.C/N
																Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺				
POZO 1 (DOS RIOS VER.)	RIZOSFERA 1	10YR 5/2	PARDO GRISACEO	10YR 3/2	GRIS PARDUSCO MUY OSCURO	1.32	2.43	56	34	10	FRANCO ARCILLO LIMOSO	40.8	5.8	5.4	20.2	2.60	0.17	3.0	2.0	5.60	4.02	0.42	5.56
	RIZOSFERA 2	10YR 5/2	PARDO GRISACEO	10YR 3/2	GRIS PARDUSCO MUY OSCURO	1.20	2.03	50	30	20	FRANCO ARCILLO LIMOSO	45.6	5.7	5.2	19.4	3.52	0.03	3.5	1.5	9.38	4.16	0.44	5.49
	0-20 cm	10YR 5/2	PARDO GRISACEO	10YR 3/2	GRIS PARDUSCO MUY OSCURO	1.35	2.16	47	10	43	ARCILLO ARENOSO	37.5	6.0	5.6	25.8	2.60	0.11	2.0	2.0	1.68	3.06	0.18	9.87
	20-40 cm	10YR 7/1	GRIS CLARO	10YR 4/1	GRIS OSCURO	1.37	2.21	17	16	67	ARCILLA	38.0	6.8	6.4	39.0	2.78	0.10	1.5	0.5	4.20	1.40	0.08	10.21
	40-50* cm	10YR 7/1	GRIS CLARO	10YR 5/1	GRIS	1.02	1.93	56	28	16	FRANCO ARCILLO LIMOSO	47.1	7.3	6.9	36.4	6.08	0.00	5.0	3.0	4.20	0.30	0.06	2.94
POZO 2 (EIL- LIANO ZAPATA VER.)	RIZOSFERA 1	10YR 5/2	PARDO GRISACEO	10YR 3/2	GRIS PARDUSCO MUY OSCURO	1.31	2.44	58	26	16	FRANCO ARCILLO LIMOSO	36.2	6.0	5.4	19.4	2.21	0.21	2.0	1.3	7.56	3.20	0.29	6.40
	RIZOSFERA 2	10YR 5/2	PARDO GRISACEO	10YR 3/2	GRIS PARDUSCO MUY OSCURO	1.39	2.18	56	34	10	FRANCO ARCILLO LIMOSO	46.3	5.9	5.5	19.6	1.73	0.17	2.0	1.3	6.58	3.06	0.35	5.07
	0 - 15 cm	10YR 4/2	GRIS PARDUS CO OSCURO	10YR 2/2	PARDO MUY OSCURO	1.38	2.58	53	18	29	MIGAJON ARCILLO ARENOSO	46.5	6.2	5.7	19.2	1.30	0.12	1.3	1.3	2.38	2.92	0.16	9.10
	15 - 60 cm	10YR 4/2	GRIS PARDUS CO OSCURO	10YR 2/2	PARDO MUY OSCURO	1.32	2.33	47	22	31	MIGAJON ARCILLO ARENOSO	40.7	6.0	5.5	19.4	2.13	0.10	1.0	1.0	0.42	2.51	0.18	9.43

Nota:

- 1.- RIZOSFERA UNO = SUELO PROXIMO A LA RAIZ.
- 2.- RIZOSFERA DOS = SUELO ADHERIDO A LA RAIZ.
- *.- MATERIAL CONSOLIDADO, PROBABLEMENTE DE ORIGEN VOLCANICO.

CUADRO 2.- ESTIMACION DE LA MICROFLORA TOTAL
 NUMERO DE MICROORGANISMOS/GRAMO DE SUELO SECO

SUELO	PROFUNDIDAD	BACTERIAS	RELACION R:S	ACTINOMICETOS	RELACION R:S	HONGOS	RELACION R:S
POZO 1 (DOS RIOS VER.)	RIZOSFERA 1	10,296,681	3.5	1,043,397	2.7	4,730	4.4
	RIZOSFERA 2	9,576,205	2.3	951,278	2.5	6,401	5.9
	0 - 20 cm	4,137,510		385,206		1,080	
	20 - 40 cm	2,841,484		205,341		279	
POZO 2 (EMILIANO ZARATA VER.)	RIZOSFERA 1	11,513,375	3.9	1,707,866	6.3	2,746	1.1
	RIZOSFERA 2	10,584,296	3.6	1,141,746	4.2	6,770	2.7
	0 - 15 cm	2,926,565		270,352		2,534	
	15 - 60 cm	2,029,671		187,976		1,415	

Nota:

- 1.- RIZOSFERA UNO = SUELO PROXIMO A LA RAIZ .
- 2.- RIZOSFERA DOS = SUELO ADHERIDO A LA RAIZ .

CUADRO 3.- ESTIMACION DE MICROORGANISMOS DEL CICLO DEL NITROGENO
 NMP (NUMERO MAS PROBABLE) DE MICROORGANISMOS/GRAMO DE SUELO SECO

SUELOS	PROFUNDIDAD	AMONIFICANTES	N I T R I F I C A N T E S						DESINITRIFICANTES	FIJADORES					
			RELACION	Nitrosomonas sp.		RELACION	Nitrobacter sp.			RELACION	LIBRES DE				
			R:S	R:S		R:S	R:S			R:S	NITROGENO	R:S			
POZO 1 (DOS TIPO VAR.)	RIZOSFERA 1	376,323	3.5	1,827	5.5	139	0.8	18,278	1.1	10,720	6.6				
	RIZOSFERA 2	1,131,514	10.6	565	1.7	1,293	7.5								
	0 - 20 cm	106,421		332		172						12,931	0.8	4,208	2.6
	20 - 40 cm	40,685		125		59						17,293		1,620	
								10,541		1,860					
POZO 2 (EPI - LIANO ZAPATA VAR.)	RIZOSFERA 1	204,779	1.8	1,565	6.0	301	2.2	20,477	1.2	7,275	9.8				
	RIZOSFERA 2	1,077,105	9.4	384	1.5	769	5.7								
	0 - 15 cm	115,018		261		135						20,003	1.1	13,171	17.7
	15 - 60 cm	46,121		197		81						17,775		746	
								8,137		557					

Nota:

- 1.- RIZOSFERA UNO = SUELO PROXIMO A LA RAIZ.
- 2.- RIZOSFERA DOS = SUELO ADHERIDO A LA RAIZ.

CUADRO 4.- ESTIMACION DE MICROORGANISMOS DEL CICLO DEL CARBONO Y DEL AZUFRE
 NMP (NUMERO MAS PROBABLE) DE MICROORGANISMOS/GRAMO DE SUELO SECO

SUELOS	PROFUNDIDAD	CELULOLITICOS	RELACION	REDUCTORES DE	RELACION
		AEROBIOS	R:S	SULFATOS	R:S
POZO 1	RIZOSFERA 1	7,526	47.3	860	0.49
(DOS RIOS VER.)	RIZOSFERA 2	8,082	50.8	7,274	4.2
	0 - 20 cm	159		1,729	
	20- 40 cm	46		658	
POZO 2	RIZOSFERA 1	6,022	48.2	602	0.44
(EMILIANO ZAPATA VER.)	RIZOSFERA 2	6,924	55.4	7,693	5.7
	0 = 15 cm	125		1,359	
	15- 60 cm	70		585	

Nota:

- 1.- RIZOSFERA UNO = SUELO PROXIMO A LA RAIZ .
- 2.- RIZOSFERA DOS = SUELO ADHERIDO A LA RAIZ.

Datos físicos y químicos de los suelos

Siendo el propósito principal de este estudio lo referente a la flora microbiana, sólo se hicieron algunos análisis físicos y químicos, tanto del suelo de rizosfera como de aquel fuera de la zona de influencia de la raíz (suelo control), cuyos resultados se muestran en el cuadro 1, apreciándose lo siguiente:

Los colores fueron en general pardos o grises, en tonos que variaron de pardo grisáceo a pardos muy oscuros.

La densidad aparente fluctuó de 1.20 a 1.39 en la rizosfera, y de 1.32 a 1.38 en el suelo de fuera de ella. La densidad real varía de 2.03 a 2.44 en el suelo de la raíz, y va de 2.16 a 2.58 en el suelo distante de ella.

La textura que predomina es la arcillosa, notándose que en el suelo de la rizosfera es moderadamente fina (franco - arcillo - limosa). La textura fino arcillo arenosa corresponde a la profundidad 0-20 cm y la fina arcillosa a la de 20 - 40 cm de profundidad. En el espesor 0 - 60 cm del pozo dos, la textura es moderadamente fina, migajón - arcillo - arenosa.

El porcentaje de porosidad alcanzó valores de 36.2 a 46.3 en el suelo de la raíz, mientras que en el suelo ajeno a ella el porcentaje más bajo fué de 37.5 y el más alto de 46.5 .

La reacción del suelo de la raíz resultó medianamente ácida (5.7 - 6); lo que representa un pH adecuado para el desarrollo de la población acidófila. El pH en el pozo 1 se vió incrementado en función de la profundidad (6.0 - 6.8), lo que manifiesta un cierto grado de lixiviación de las sales hacia las capas más profundas. El pH de 7.5 corresponde al espesor de 40 - 50 cm de profundidad en el pozo 1, el cual parece estar formado de material volcánico consolidado. En el espesor de 0 - 60 cm del pozo dos, el pH resultó medianamente ácido (6.0 - 6.2).

La C.I.C.T. fué en general alta, siendo la más baja de 19.4 meq/100 g y la más alta de 20.2 en el suelo de la raíz, y de 19.2 a 39 en el suelo alejado de dicha zona. Estos valores son frecuentes en

los suelos derivados de material volcánico, indicando en ambos casos, el elevado contenido de materia orgánica y material arcilloso amarfio.

Respecte a los cationes solubles, la concentración del Na^+ varió de 1.73 a 3.52 meq/l en el suelo de la rizosfera y de 1.30 a 2.78 en el suelo ajeno a ella. En el K^+ se presentó una fluctuación de 0.03 a 0.21 en el suelo de la raíz y de 0.10 a 0.12 meq/l en el suelo control. El catión Ca^{++} varió de 2 a 3.5 en el suelo afectado por la raíz, y de 1 a 2 en el suelo distante de ella; en tanto que en el Mg^{++} , en el suelo de la rizosfera, fluctuó de 1.3 a 2.0, y de 0.5 a 2 meq/l en el suelo fuera de la raíz. En general, los cationes solubles resultaron bajos, hecho que era de esperarse en vista de la reacción ácida de los suelos.

Por lo que respecta al fósforo asimilable, la concentración varió de 5.60 a 9.38 Kg/Ha en el suelo influenciado por la raíz, y de 0.42 a 4.20 en el suelo alejado de la raíz; la más alta concentración de P asimilable en la rizosfera nos induce a pensar en la presencia de una microflora activa que aumenta la disponibilidad de este anión.

La materia orgánica disminuye con la profundidad, encontrándose en mayor proporción en el suelo de rizosfera que en el suelo ajeno a ella. Los porcentajes variaron, de medios (3.06) a elevados (4.16) para el suelo de la raíz, y fueron medianos (1.40 - 3.06) en el suelo fuera de dicha zona. Resulta evidente que la raíz aporta al suelo materia orgánica, que representa una adecuada fuente de carbono propiciando un mayor desarrollo de microorganismos de dicha zona.

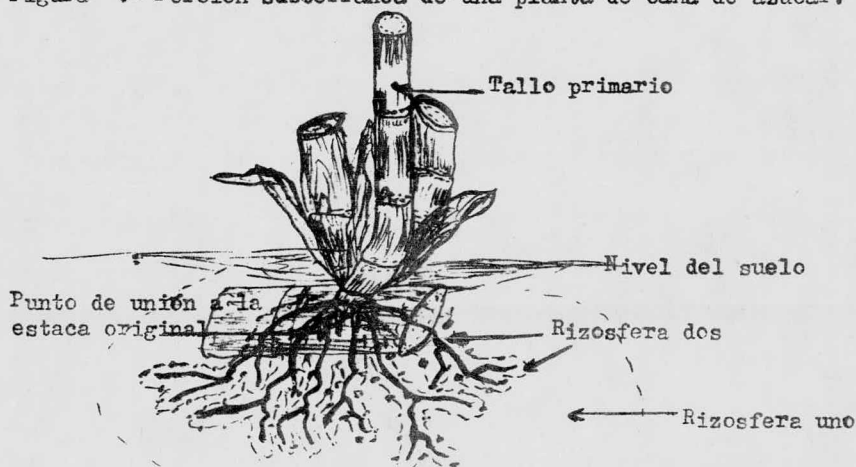
En el nitrógeno total se observó una fluctuación de 0.29 a 0.44 % en el suelo de la rizosfera, y de 0.08 a 0.18 % en el suelo distante de ella. Esto nos indica un importante aporte de este elemento por parte de la población microbiana del suelo influenciada por la raíz y que, a su vez, es estimulada por los exudados radiculares. Este efecto, expresado en términos de la relación C/N cuya variación es de 5.07 a 6.40 en la zona afectada por la raíz, y de 9.10 a 10.21 en el suelo ajeno a la rizosfera, nos indica una elevada proporción de N con respecto al C, lo cual permite una fuerte mineralización de C y del N. Este resulta importante, si tenemos en cuenta

que la literatura considera como óptimo, para estos procesos, una relación C/N de 10:1 y que la mineralización del Nitrógeno pone a disponibilidad de la planta este elemento.

Microorganismos

El recuento de la microflora total (Cuadro 2) fué en general bajo, posiblemente debido al efecto del pH ácido del suelo sobre su desarrollo, que debe favorecer más a la flora acidófila. La población del pozo 2, del Municipio de Emiliano Zapata, fué ligeramente más elevada, que aquella del Municipio de Dos Rios (pozo 1); probablemente debido a que el pH de la primera localidad se acerca ligeramente más a la neutralidad. Esto fué cierto aún para los hongos, no obstante el menor contenido de materia orgánica de dicho pozo. Los grupos microbianos se presentan en el orden de abundancia siguiente: la máxima población corresponde a las bacterias, le siguen en número los actinomicetos y los menos abundantes fueron los hongos. El número de bacterias y actinomicetos fué ligeramente más abundante en el suelo próximo a la raíz (rizosfera uno) (ver figura), comparada con aquella del suelo adherido a la raíz (rizosfera dos) en donde los hongos fueron los más abundantes. La microflora disminuyó con el aumento de la profundidad, lo cual puede ser ocasionado por una gradual disminución en el contenido de la materia orgánica, junto con un ligero aumento en las condiciones de anaerobiosis.

Figura .- Porción subterránea de una planta de caña de azúcar.



Se aprecia un efecto de rizosfera positiva para la microflora total, lo cual nos indica una elevada cantidad de sustancias proporcionadas por la raíz. En vista de que los métodos de cuenta de hongos en placa, que se emplean estiman más la capacidad de esporulación que la cantidad de micelio activo, la determinación del efecto de rizosfera para los hongos y los actinomicetos no es muy precisa.

La población bacteriana promedio varió de 10,080,250 con un R:S de 2.5 a 3.9 en la rizosfera del suelo 1, y a 10,905,028 con un R:S de 2.3 a 3.6 en la rizosfera del suelo 2. Las formas actinomicetales promedio fluctuaron de 1,375,631, con una relación R:S de 2.7 a 6.3 en el suelo próximo a la raíz, a 1,046,512 con un efecto de rizosfera de 2.5 a 4.2 en el suelo adherido a la raíz (suelo 2). Las formas fúngicas promedio variaron de 3,738, con un valor R:S que va de 1.1 a 4.4 en el suelo 1 de la rizosfera, a 6,585 con un R:S de 2.7 a 5.9 en el suelo 2 de la raíz. La diferencia tan grande en los valores R:S demuestra claramente que la cuantificación de los actinomicetos y los hongos, como ya se explicó anteriormente, en términos de la relación R:S, no es muy precisa en su apreciación.

El potencial de hidrógeno parece indicarnos que la influencia de la raíz, sobre la población de la rizosfera, debe ir estrechamente relacionada a la reacción del suelo; así se observa como a la población ligeramente más numerosa del suelo de la raíz del pozo dos, corresponde un pH ligeramente más próximo a la neutralidad, que aquel pH determinado en la rizosfera del pozo uno. Estos datos nos indican que la influencia de la raíz sobre la población que soporta no puede ser medida en forma precisa, en términos de la relación R:S, en vista de que la actividad metabólica de la microflora depende no sólo del grado de influencia de la raíz, sino también de la reacción del suelo que determina; entre otros factores, la forma de asimilación de los nutrimentos.

En consideración a lo anterior, también, es interesante notar que a la más elevada flora bacteriana, de la rizosfera uno, corresponde la más baja población fúngica del mismo suelo de la raíz. En tanto que a una población de hongos ligeramente más elevada en el suelo de la rizosfera dos, corresponde una ligera disminución en el número de

las bacterias en dicho suelo, lo cual es índice de una estrecha relación entre estos dos grupos de microorganismos, manifestada por una competencia. Esto pudo ser la causa de una población de bacterias ligeramente más baja de la rizosfera dos comparada con aquella observada en la uno. La población de los actinomicetos permaneció más o menos constante en su relación con las formas bacterianas representando, en todos los casos, aproximadamente un décimo de la cantidad de las bacterias.

Debe recordarse que el clima, el estado fisiológico y el grado de desarrollo de la planta, lo mismo que la metodología, entre otros factores, deben afectar los recuentos microbianos.

En lo que se refiere a la actividad metabólica específica (Cuadros 3 y 4) se aprecia lo siguiente:

La población en general es baja probablemente debido al efecto del pH, el cual debió favorecer más a la flora acidófila como sería la de aquellos fijadores libres de nitrógeno característicos de suelos ácidos. Los grupos microbianos aparecen, por su orden de abundancia, como sigue: 1) la más elevada población corresponde a las formas amonificantes; 2) siguen en número los desnitrificantes; 3) luego los fijadores libres de nitrógeno; 4) a continuación están los celulolíticos, con un número ligeramente mayor que el de los reductores de sulfatos; 5) los menos abundantes son los nitrificantes, en cantidades similares para los dos géneros (Nitrosomonas sp. y Nitrobacter sp.). Con la excepción de los fijadores libres de nitrógeno (1860 / gr. de suelo) correspondientes al espesor de 20 - 40 cm, en general la microflora disminuyó en función de la profundidad.

Microorganismos del ciclo del nitrógeno (Cuadro 3):

La microflora amonificante promedio varió de 290,551, con una relación R:S de 1.8 a 3.5 en el suelo de la rizosfera uno, a 1,104,309 con un R:S de 9.4 a 10.6 en la dos; el incremento en la población amonificante en la rizosfera, puede deberse a la presencia de aminoácidos en el suelo de la raíz.

La flora nitrificante promedio para Nitrosomonas sp. fluctuó de 474 con un valor R:S que va de 1.5 a 1.7 en el suelo adherido a

la raíz, a 1,696 con un efecto de rizosfera de 5.5 a 6.0 en el suelo próximo a la raíz (suelo 1). Para Nitrobacter sp. varió de 220 con un valor R:S de 0.8 a 2.2 en el suelo de rizosfera uno, a 1,031 con un R:S de 5.7 a 7.5 en el suelo de rizosfera dos; la relación existente entre ambos géneros es bastante notoria, pues al más elevado recuento de Nitrosomonas sp. en el suelo de la rizosfera uno corresponde el más bajo para Nitrobacter sp., en tanto que ocurre lo inverso en el suelo de la rizosfera dos. En vista de que los nitrificantes cuantificados son organismos autótrofos resultó bajo su conteo, probablemente inhibidos por: la acidez, la elevada cantidad de materia orgánica soluble, y una elevada cantidad de amonio que inhibe a Nitrobacter sp. La elevada cantidad de carbohidratos abastecidos por la raíz (en particular la sacarosa) deben favorecer la actividad competitiva de los heterótrofos, como son los amonificantes y los fijadores libres de nitrógeno.

La micropoblación desnitrificante promedio fluctuó de 19,377 con un valor R:S que va de 1.1 a 1.2 en el suelo de la rizosfera uno, a 16,467 con un R:S de 0.8 a 1.1 en la dos. Su población resultó ligeramente más alta en la rizosfera que la del suelo ajeno a ella. La más alta población amonificante de la rizosfera comparada con aquella de los desnitrificantes, es benéfica para la planta, en vista de que las pérdidas de nitrógeno deben ser menores, comparadas con el grado de abastecimiento de este elemento en la forma de NH_4^+ para la planta.

Los fijadores libres de nitrógeno fluctuaron de 7,275 a 10,720 con un R:S de 9.8 a 6.6 en la rizosfera uno, respectivamente; en tanto que la variación en la rizosfera dos fué de 4,208 a 13,171 con valores R:S que van de 2.6 a 17.7, respectivamente. El recuento de los fijadores libres de N_2 , resultó particularmente alto en el suelo de la raíz, como lo muestra el elevado efecto de rizosfera de 17.7; sin embargo su conteo debe ser mayor en ambos suelos (de raíz y ajeno a ella), pues el método de la dilución del suelo empleado para su cuantificación probablemente no debió disgregar completamente los agregados sumamente mucosos de estos microorganismos. La

abundante cantidad de sustancias orgánicas proporcionadas por la raíz (en particular la sacarosa) debió inclinarse en mucho el equilibrio de la rizosfera a su favor (Döbereiner, 1961). Un notable decremento de los fijadores asimbióticos de nitrógeno se presentó de la rizosfera 1 al suelo ajeno a la raíz, esta variación fue de 10,720 a 1,620 y de 7,275 a 746 de sus pozos respectivos.

Aunque el pH del suelo es ácido y no es el óptimo, en términos generales, para los microorganismos del ciclo del nitrógeno, se encontró que la relación C/N es baja en todos los casos, por lo que favorece, en alto grado, a la mineralización del N, y muy particularmente en el suelo adherido a la raíz.

En el suelo adherido a la raíz del sitio dos, con una relación C/N de 5.07, la más baja de todas las estimadas, coincide con la más abundante población de fijadores libres de nitrógeno. A este respecto, existe el antecedente de la falta de respuesta a la fertilización nitrogenada en una gran parte de los experimentos realizados en suelo tropicales del Brasil; esto ha sido atribuido al papel de los microorganismos no simbióticos fijadores de nitrógeno, en la restitución de este elemento al suelo (Döbereiner, 1971). Este tipo de microorganismos se reporta muy relacionado a pastos forrajeros, arroz y caña de azúcar, las cuales estimulan en alto grado la multiplicación de Beijerinckia y abaten el número de bacterias dependientes de aminoácidos, hongos y actinomicetos.

Microorganismos del ciclo del carbono y del azufre (Cuadro 4):

Los conteos de los celulolíticos fueron mayores en la rizosfera dos que en la uno en cada pozo, con un número promedio de microorganismos de 7,503 en la dos y de 6,774 en la uno. El valor R:S promedio fue de 47.75 en el suelo de la rizosfera uno y de 53.1 en la dos, lo que indica la fuerte influencia que ejerció la raíz sobre esta población. Es evidente el decremento de esta microflora del suelo de la raíz comparado con el suelo alejado de ella, disminuyendo de 7,526 a 159 en el pozo uno y de 6,022 a 125 en el pozo dos. La abundancia de sustancias carbonadas (en particular residuos de celulosa) deben estimular a la población celulolítica.

Los microorganismos del ciclo del azufre fueron ligeramente más numerosos en el suelo adherido a la raíz (rizosfera dos) que en

el suelo próximo a ella (rizosfera uno), con una microflora promedio de 7,483 en la rizosfera dos y de 731 en la uno. La relación R:S promedio fué de 4.95 en el suelo 2 de la raíz y de 0.46 en el suelo 1 de la rizosfera. Las pérdidas del azufre deben ser insignificantes, dada la reducida población reductora de sulfatos.

En general, se aprecia, una relación R:S positiva, con las excepciones del efecto de rizosfera ligeramente negativo de 0.8 para los desnitrificantes de la rizosfera dos (Dos Ricos), y los valores de 0.44 y 0.49 de los reductores de sulfatos de la rizosfera uno.

En los cuadros 3 y 4 se muestra que el más pronunciado efecto de rizosfera alcanzado fué para los celulolíticos con 55.4, seguido por el de los fijadores libres de nitrógeno con 17.7, a continuación el efecto disminuye para los amonificantes con 10.6, seguido por el género Nitrobacter sp. con 7.5 . Una influencia de la raíz más baja es alcanzada por el género Nitrosomonas sp. con 6.8, e inmediatamente por los reductores de sulfatos con 5.7 y, finalmente, se presentó la más reducida influencia para los desnitrificantes con 1.2, lo cual desde el punto de vista de la economía del nitrógeno resulta benéfico, ya que una disminución de esta flora indica menor pérdida de Nitrógeno por desnitrificación.

V .- R E S U M E N

El presente trabajo comprende el estudio de algunos suelos cañeros de los Municipios de "Dos Rios" y "Emiliano Zapata", Edo. de Veracruz, cuyas características coinciden con las de algunos suelos derivados de cenizas volcánicas.

Se presentan los datos obtenidos de la cuantificación de la microflora total, y de los microorganismos del ciclo del nitrógeno, carbono y azufre; tanto del suelo como de la rizosfera de la caña de azúcar. Así como también, algunas de las propiedades físicas y químicas de estos suelos.

La densidad aparente fluctuó de 1.20 a 1.39, mientras que la densidad real varió de 2.03 a 2.58.

La textura predominante fué la arcillosa.

El pH de los suelos varió de 5.7 a 6.8.

La capacidad de intercambio catiónico total (C.I.C.T.) aparece dentro de los límites de 19.4 a 39 meq/100g.

Respecto a los cationes solubles, la concentración del Na^+ varió de 1.30 a 3.52 meq/l. En el K^+ se observó una fluctuación de 0.03 a 0.21 meq/l. El Ca^{++} varió de 1.0 a 3.5 meq/l. El Mg^{++} fluctuó de 0.5 a 2.0 meq/l .

En el fósforo asimilable la concentración varió de 5.60 a 9.38 Kg/Ha en el suelo influenciado por la raíz, y de 0.42 a 4.20 en el suelo alejado de ella.

Los porcentajes de materia orgánica variaron de 3.06 a 4.16 para el suelo de rizosfera, y de 1.40 a 3.06 para el suelo fuera de dicha zona.

En el nitrógeno total se observó una fluctuación de 0.29 a 0.44 % en el suelo de la rizosfera y de 0.08 a 0.18 % en el suelo distante de ella. La relación C/N varió de 5.07 a 6.40 en la zona afectada por la raíz, y de 9.10 a 10.21 en el suelo ajeno a la rizosfera.

Los grupos microbianos se presentaron en el orden de abundancia siguiente: la máxima población corresponde a las bacterias, le siguen en número los actinomicetos y los menos abundantes fueron los hongos. Se apreció un efecto de rizosfera positivo para la microflora.

ra total

En cuanto a la población de la microflora específica, aparecieron, en orden decreciente como sigue: 1) amonificantes, los más abundantes; 2) desnitrificantes; 3) fijadores libres de nitrógeno; 4) celulolíticos; 5) reductores de sulfatos; 6) nitrificantes (Nitrosomonas sp. y Nitrobacter sp.), que constituyeron la menor población. En general, la relación R:S para estos grupos microbianes fué positiva, con la excepción de los desnitrificantes del suelo adherido a la raíz, y de los reductores de sulfatos del suelo próximo a ella. El efecto de rizosfera se presentó en el orden siguiente: 1) celulolíticos, con el máximo efecto; 2) fijadores libres de nitrógeno; 3) amonificantes; 4) nitrificantes (Nitrosomonas sp. y Nitrobacter sp.); 5) reductores de sulfatos; 6) desnitrificantes, con el menor efecto de rizosfera.

V I .- B I B L I O G R A F I A

- 1.- Alexander, M. 1961. Introduction to Soil Microbiology. John Wiley & Sons, Inc, New York and London p.442.
- 2.- Association of Official Agricultural Chemists A.O.A.C. 1970. Methods of Analysis. 9 th ed. Washington, D. C. U.S.A.
- 3.- Barkworth & Mary Bateson. 1965. The population level of presuntive Nitrosomonas and Nitrobacter in some English soils. Plant and Soil 22: 220-228.
- 4.- Bezerra, C.A. & Bezerra, De O.L. 1969. Ocorrência e distribuição em profundidade de Azotobacter e Beijerinckia em alguns perfis de solo da zona úmida de Pernambuco. Pesq. Agrop. Bras. 4:47-52.
- 5.- Bouyoucos, G.J. 1963. Directions for making Mechanical Analysis of Soil by Hydrometer Method. Soil Sci. 42:25-30.
- 6.- Bunt, J.S. & Rovira, A.D. 1955, Microbial studies of some subantarctic soils. Jour. Soil Sci. 6: 129-136.
- 7.- Burges, A. & Raw, F(ed). 1971. Biología del Suelo. Aspectos micro biológico, botánico y zoológico. Ed. Omega.S.A. Barcelona p.590.
- 8.- Carson, E.W (ed). 1974. The Plant Root and Its Environment. The University Press of Virginia p. 691.
- 9.- C.N.I.A. (Comisión Nacional de la Industria Azucarera). 1975. 2º Informe Técnico del I.M.P.A. Enero a Diciembre de 1973. I.M.P.A. (Instituto para el Mejoramiento de la Producción de Azúcar). México 7: 169-178 .
- 10.- C.N.I.A. 1975. Veinticinco Años de Investigación Cañera en México. I.M.P.A. México 8:39-160 .
- 11.- Döbereiner, J. 1961. Nitrogen - fixing bacteria of the genus Beijerinckia Derx in the rhizosphere of sugar cane. Plant and Soil 15 (3): 211-216 .
- 12.- Döbereiner, J. 1968. Non-Symbiotic Nitrogen Fixation in Tropical Soils. Pesq. Agrop. Bras. 3:1-6.
- 13.- Döbereiner, J. & Campelo, A.B. 1971. Non- Symbiotic Nitrogen Fixing Bacteria in T_rropical Soils. Plant and Soil., Special Volume p. 457-470.
- 14.- Döbereiner, J; Day, J.M. & Dart, P.J. 1972. Nitrogenase activity

- in the rhizosphere of sugar cane and some other tropical grasses. *Plant and Soil*. 37: 191-196 .
- 15.- Döbereiner, J., Day, J.M. & Dart, P.J. 1973. Fixação De Nitrogênio Na Rizosfera de Paspalum notatum E Da Cana-de-Açúcar. *Pesq. Agrop. Bras. Sér. Agronm.* 8: 153-157 .
- 16.- Dommergues, Y. & Mangenot, F. 1970. *Ecologie Microbienne Du Sol*. Masson et. C^{ie}, éditeurs, Paris p. 552-585.
- 17.- Dubos, R.J. 1928. The decomposition of cellulose by aerobic bacteria. *J. Bacteriol.* 15: 223-234 .
- 18.- Garassini, L.A. 1950. El Suelo y su Microflora. *Rev. Fac. Agron. Univ. Centr. Venezuela* 4: 5-225.
- 19.- García, E. 1964. Los climas del Estado de Veracruz, según el Sistema de Clasificación de Köppen, modificado por la autora. 1972. *Anales del Instituto de Biología. U.N.A.M. Serie Botánica* 41: 1-42.
- 20.- Jackson, M.L. 1964. *Análisis Químico de Suelos*. Ed. Omega, S.D. Barcelona, España p.622.
- 21.- Katznelson, H. 1946. The rhizosphere effect of mangels en certains group of soil microorganisms. *Soil Sci.* 62: 343-354.
- 22.- Lipman, C.B. The distribution and activity of bacteria in soil of arid regions. *Univ. of Calif. Public. Agr. Sci.* 1. Citado por Rubenchik, L.I.- *Azotobacter and its use in agriculture* Jerusalem. Isarael Program for Scientific Translations, 1963.
- 23.- Loran, N.R. 1976. Algunos estudios de suelos derivados de cenizas volcánicas del Transecto Jalapa-Teocelo, Veracruz. México, Tesis. Biólogo. Fac. de Ciencias. U.N.A.M.
- 24.- Martín, J.P. 1950. Use of Rose Bengal and Streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69: 215-233.
- 25.- Mc-Crady, P.W. 1946. *Standard Methods of Water Analysis*. Am. Pub. Health and Am. Water. Wks. Assoc. 9 th. Ed. p. 131-138.
- 26.- Mishustin, E.N. & Shil'nikova, V.K. 1971. *Biological Fixation Atmospheric Nitrogen*. The Mac. Millan Press Limited. Ed. p.4, 221-257.
- 27.- Munsell Soil Color Chart. 1954. Edition Munsell Color Co. Inc.

Baltimore, 2 Maryland, U.S.A.

- 28.- Peña, J.J. & Döbereiner, J. 1974. Efecto del nitrato y amonio en la actividad de la nitrogenasa de bacterias tropicales fijadoras de nitrógeno atmosférico. *Rev. Lat-Am. Microbiol.* 16: 33-44.
- 29.- Safrany, D. 1974. Nitrogen Fixation. *Scientific American*. October: 64-80 .
- 30.- Skinner, K.J. 1976. Nitrogen Fixation. Key to brighter future for agriculture?. *Chemical Engineering News.*, October: 22-35.
- 31.- Spiff, E.D. & Odu, C.T.I. 1973. Acetylene Reduction by Beijerinckia under varios Partial Pressures of Oxygen and Acetylene. *Journal of General Microbiology* 78: 207-209 .
- 32.- Timonin, M.J. 1945. Microflora of the rhizosphere in relation to manganese deficiency disease of oats. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* Vol. II; 284-292.
- 33.- Thompson, L.M. 1965. *El Suelo y su Fertilidad*. Ed. Reverté. S.A. Barcelona, Buenos Aires, México. Trad. 3ª Ed. p. 30-34.
- 34.- Torres, C.I. 1976. Algunos estudios de suelos derivados de cenizas volcánicas del Transecto Tezintlan-Puebla a Jalapa, Veracruz. México. *Tesis. Biólogo. Fac. de Ciencias. U.N.A.M.*
- 35.- Van Dillewijn, C. 1952. *Botany of Sugarcane- Crónica Botánica*, Waltham. Mass U.S.A. p. 196.
- 36.- Walker, N (ed). 1975. *Soil Microbiology*. A Halsted Press Book, A División of John Wiley & Sons, Inc. p. 262.
- 37.- Walkley, A. 1947. Critical examination for determining organic carbon in soils. *Soil Sci.* 63: 251-264.