

2ej  
6

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

UNIDAD ACADEMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE POSGRADO

INSTITUTO DE INVESTIGACION BIOMEDICA BASICA



**UN MODELO MATEMATICO DE LA INTERACCION  
POBLACIONAL *Rhizobium*-LEGUMINOSA**

T E S I S  
QUE PARA OPTAR POR EL TITULO DE  
LICENCIADO EN INVESTIGACION BIOMEDICA BASICA  
P R E S E N T A  
EDNA SHAPIRO LERNER



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está 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.

## Índice

	Página
PROLOGO	I
INTRODUCCION	1
-Depredador-presa	2
-Competencia	6
-Mutualismo	11
ANTECEDENTES	18
-Las leguminosas	19
- <u>Rhizobium</u>	20
*Clasificación	21
*La bacteria en el suelo	23
-La simbiosis	25
-Los nódulos	32
EL MODELO	40
-Ecuación que describe la dinámica de la planta	40
-Ecuación que describe la dinámica de la bacteria	43
-Ecuación que describe la dinámica del nódulo	45
RESULTADOS Y DISCUSION	48
-Desarrollo del modelo	48

-Resultados analíticos	50
-Resultados de las simulaciones	51
* Distribución de los nodulos efectivos por planta	52
* La velocidad de saturación	54
* El aumento máximo en la velocidad de crecimiento de la población de plantas	54
* La velocidad de inoculación efectiva	55
CONCLUSIONES	57
REFERENCIAS	59

PROLOGO

En Ecología se han estudiado ampliamente las interacciones de competencia y de depredador-presa. Sin embargo, exceptuando algunos trabajos, hasta hace muy recientemente (10 o 15 años), los ecólogos han empezado a estudiar el mutualismo en una forma más formal y teórica.

El objetivo de este trabajo es hacer un modelo matemático de una interacción mutualista. En particular, se tomo como sistema a la simbiosis entre Rhizobium y las leguminosas por su importancia agronómica. Para desarrollar el modelo se utilizan técnicas de análisis cualitativo y numérico.

Antes de abordar el modelo de mutualismo de esta simbiosis, se presentan los ejemplos generales de modelos de competencia, depredador-presa y mutualismo para poner en contexto el modelo aquí presentado.

## INTRODUCCION

El papel de la modelación matemática en Ecología ha ido aumentando desde los trabajos de Lotka (1925) y Volterra (1926) (citados en Boucher 1985).

Las descripciones matemáticas de los sistemas ecológicos pueden hacerse con dos propósitos distintos, uno práctico y otro teórico.

Las descripciones con un propósito práctico son las simulaciones. Estas incluyen el mayor número posible de detalles relevantes y pueden utilizarse para predecir la conducta de algún sistema particular (Maynard-Smith 1974).

El valor de las simulaciones está restringido principalmente al análisis de casos particulares. Mientras mejor sea la simulación, con la inclusión de todos los detalles relevantes, es más difícil generalizar sus conclusiones para otras especies. Una teoría ecológica debe de hacer planteamientos acerca de ecosistemas en su totalidad, al igual que acerca de especies particulares en momentos determinados y debe de hacer planteamientos verdaderos para muchas especies distintas y no sólo para una.

Para descubrir ideas generales en ecología, son necesarios distintos tipos de descripciones matemáticas llamadas modelos. Mientras que una buena simulación debe de incluir el mayor número de detalles, un buen modelo debe de incluir el menor número. En los sistemas ecológicos, las migraciones, el comportamiento territorial, las fluctuaciones climáticas y la variación genética intra-específica, etc. son todos relevantes. Pero no por esta razón se pondrán todas estas características en todos los modelos. En vez de esto, se adopta el método del científico experimental, que es el variar

un parámetro cada vez, y hacerlo en un sistema que sea lo más sencillo posible. Si el modelo es muy complicado, es difícil entender el comportamiento del modelo y esto es importante cuando se compara el comportamiento de dos modelos de ecosistemas: estar seguro del parámetro que hace relevante la diferencia.

Algunas veces el comportamiento de los modelos matemáticos se puede descubrir analíticamente, otras veces es necesario recurrir a una simulación en la computadora.

El papel principal de los modelos teóricos es el de sugerir ideas e hipótesis relevantes y el de proveer de un marco conceptual al cual poder referir las observaciones.

En ecología se han hecho muchas simulaciones, modelos y teorías ecológicas para tratar de entender las distintas interacciones entre especies. Estas son fundamentalmente tres: depredador-presa, competencia y mutualismo.

#### DEPREDADOR-PRESA.

Una interacción de depredador-presa es aquella en la cual una de las especies, el depredador, consume total o parcialmente y/o daña a la presa obteniendo un beneficio demográfico y por lo tanto la población del depredador causa un perjuicio demográfico a la población de presas, un animal o una planta. Existen varias categorías de depredadores:

- 1) Los depredadores verdaderos, que consumen otros animales (su presa) para sobrevivir y reproducirse.
- 2) Los parasitoides, insectos que ponen sus huevos en o cerca de otros insectos. Estas larvas crecen haciendo al principio poco daño al

huésped pero al final lo consumen totalmente, matándolo. La diferencia entre los parasitoides y los depredadores verdaderos está basada en dos factores: uno, el tamaño relativo entre la presa y el depredador vs. el parasitoides y su huésped, y el otro, la relación tan estrecha que existe entre el parasitoides y su huésped.

3) Los parásitos, organismos que viven en una asociación obligada con el huésped una gran parte de sus vidas, haciéndoles daño pero sin llegar a la muerte del huésped.

4) Los herbívoros, algunos son verdaderos depredadores ya que consumen totalmente a la planta, pero otros más como parásitos que viven en una asociación muy cercana con la planta alimentándose de ella y reduciendo sus aptitudes. Y unos últimos que simplemente por el hecho de consumir algunas partes de la planta, causan su mortalidad (Begon & Mortimer 1981)

Algunos ejemplos de interacciones depredador-presa son: el león que ataca a la cebra para alimentarse, la ballena al camarón, el buho al ratón, la rana a la mosca y el venado que daña distintas clases de pines, (Harper 1977).

Uno de los primeros modelos de depredador-presa es el que está basado en las ecuaciones de Lotka-Volterra.

La ecuación diferencial más sencilla que describe el crecimiento de una población es:

$$\frac{dx}{dt} = rx \quad (1)$$

donde  $x$  es la densidad de la población al tiempo  $t$  y  $r$  es una constante. Esta es una buena descripción del crecimiento de una colonia de bacterias antes de que el medio se acabe.

La ecuación (1) puede ser cierta sólo durante un período de tiempo



limitado; finalmente la población en aumento va a acabar con sus recursos. La población puede establecerse en un punto de equilibrio; puede fluctuar, regular o irregularmente; o puede disminuir. Una ecuación muy utilizada para describir este comportamiento es la ecuación logística

$$\begin{aligned} \text{ó} \quad \frac{dx}{dt} &= ax - bx^2 & (2a) \\ \frac{dx}{dt} &= rx \left(1 - \frac{x}{K}\right) & (2b) \end{aligned}$$

la justificación para ésta ecuación es que es la ecuación diferencial más sencilla con los dos rasgos requeridos:

1. Cuando  $x$  es pequeña, la ecuación se reduce a (1) y el crecimiento es exponencial,
2. Conforme  $t$  aumenta,  $x$  se acerca a un valor de estabilidad sin oscilaciones.

En la ecuación (2b),  $r$  representa la tasa de crecimiento intrínseca y  $K$  la capacidad de carga (la densidad en el equilibrio de una especie presa en ausencia de otras especies con dinámica acoplada).

Volterra consideró las siguientes ecuaciones como aquellas que describen las interacciones entre una especie presa, de densidad  $x$ , y su depredador, densidad  $y$ :

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= ax - bx^2 - cxy \\ \frac{dy}{dt} &= -ey + c'xy \end{aligned} \quad (3)$$

Las suposiciones que subyacen a éstas ecuaciones, además de las ya mencionadas anteriormente son:

1. En ausencia de depredación, las especies presa siguen la ecuación

logística con una tasa de crecimiento intrínseca de  $a$  y una capacidad de carga de  $a/b$ .

2. La velocidad a la cual las presas son atacadas es proporcional al producto de las densidades de la presa y el depredador.

3. El beneficio demográfico en la población depredadora es proporcional a la cantidad de presas atacadas.

Las suposiciones de Volterra son ciertas, si una o ambas especies se mueren al azar; sí, cuando se encuentran hay una probabilidad constante de que el depredador mate a la presa; y si el tiempo que toma el depredador en consumir a la presa es despreciable.

¿Como se comportaría un sistema descrito por estas ecuaciones? En cualquier tiempo  $t$ , el estado del sistema está totalmente descrito por los valores de  $x$  y  $y$ ; para cada estado corresponde un punto en el plano  $(x, y)$ , que se llama espacio de fase. Si a cada punto del espacio de fase se le puede atribuir una flecha, indicando la dirección en la cual se va a mover el sistema que esté en ese punto, se pueden entonces unir estas flechas para formar trayectorias que indicarán como se mueve el sistema.

El primer paso es graficar en el espacio de fase las líneas, llamadas isoclinas, para las cuales  $dx/dt=0$  ( y por lo tanto las flechas son paralelas al eje  $y$  ) y  $dy/dt=0$  ( flechas paralelas al eje  $x$  ). Así:

$$\frac{dx}{dt} = 0 \quad \text{cuando} \quad a - bx - cy = 0$$

$$\frac{dy}{dt} = 0 \quad \text{cuando} \quad -e + c'x = 0$$

La primera pregunta es cuestionar si existe un estado estacionario, con  $dx/dt=0$  y  $dy/dt=0$  simultáneamente. Esto requiere:

$$x = \frac{e}{c'} ; \quad y = \frac{a}{c} - \frac{be}{cc'}$$

Aquí,  $x$  es necesariamente positivo, pero  $y$  es positivo sólo si  $a/c > be/cc'$  o  $a/b > e/c'$ ; ésta desigualdad afirma que para que haya un estado de equilibrio con ambos, la presa y el depredador, existentes, la capacidad de carga de la presa,  $a/b$ , debe de ser suficientemente grande para sostener al depredador.

Para encontrar la dinámica del sistema, las flechas deben de ponerse como en la figura 1. Para hacer esto, se nota que para  $x > e/c'$ ,  $dy/dt$  es positivo, y para  $x < e/c'$ ,  $dy/dt$  es negativo. Así mismo, para los puntos en el espacio de fase arriba de la línea  $a - bx - cy = 0$ ,  $dx/dt$  es negativo y abajo,  $dx/dt$  es positivo. Esto permite trazar las flechas mostradas en la figura 1a. En la figura 1b estas flechas se han unido para formar una trayectoria, que es una espiral convergente al punto estacionario. La naturaleza convergente de la espiral depende del ángulo con el cual se intersectan las líneas  $dx/dt=0$ ,  $dy/dt=0$ . Este punto queda ilustrado en la figura 2.

El término  $-bx^2$  en la ecuación (3), que expresa el efecto inhibitorio de una especie sobre su propio crecimiento, se llama amortiguamiento. En ecología, el factor principal que reduce las oscilaciones es la presencia de efectos auto-inhibidores como ésta. En la ecuación (3) el término de amortiguamiento se incluyó en la presa pero no en el depredador. La lógica detrás de esto supone que el depredador está solo limitado por su comida, es decir, la presa (Maynard-Smith 1974).

COMPETENCIA.

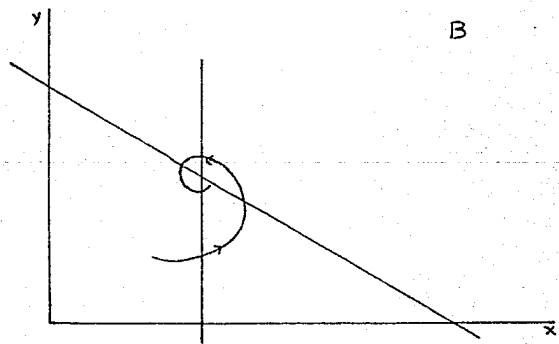
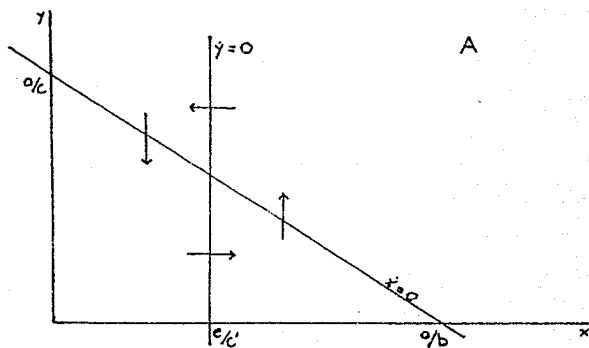


Figura 1. Espacio de fase con las isoclinas que representan un sistema de depredador-presa. Las flechas indican cómo se mueve el sistema.

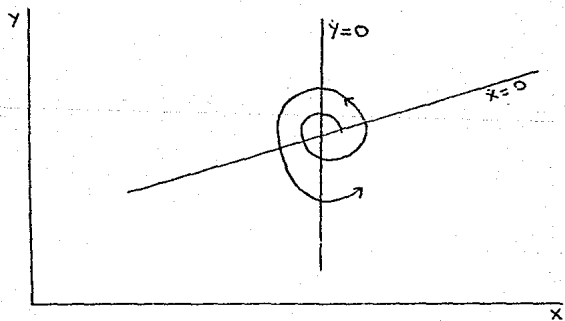
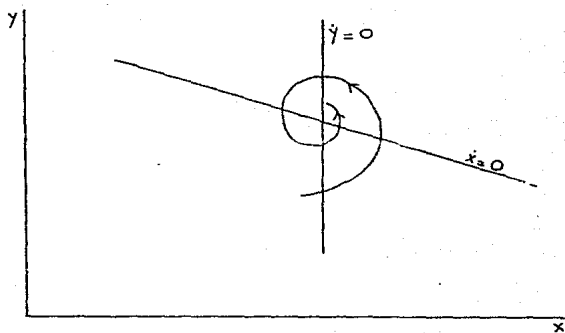


Figura 2. Relación entre la estabilidad del equilibrio y la pendiente de la recta  $x=0$ .

Una interacción de competencia entre dos (o más) especies se define cuando las especies utilizan un mismo recurso limitante, ya sea comida, espacio, luz, etc...

Un aspecto esencial de la interacción de competencia es que las dos especies se hacen daño. Otro punto a considerar es que cuando dos especies compiten en general una especie se va a ver mucho más afectada que la otra (Lauton & Hassel, 1981).

Un ejemplo de competencia es el caso de las hormigas granívoras y los roedores que compiten por las semillas en el desierto: cuando no hay roedores, el número de hormigas aumenta e igualmente sin hormigas los roedores aumentan y sólo si faltan ambos roedores y hormigas, aumenta el número de semillas (Begon & Mortimer 1981).

De manera muy similar al caso de depredador-preza, presentamos un modelo de competencia basándonos en la ecuación logística (Lotka 1925, Volterra 1926, citados en Boucher 1985).

Sea  $N_1$  la especie 1 ( $K_1$ , su capacidad de carga y  $r_1$  la velocidad intrínseca de crecimiento) y  $N_2$  la especie 2, entonces la ecuación logística es:

$$\begin{aligned} \frac{dN_1}{dt} &= r_1 N_1 (K_1 - N_1) \\ \frac{dN_2}{dt} &= r_2 N_2 (K_2 - N_2) \end{aligned} \tag{4}$$

Llamamos a  $\alpha$  el coeficiente de competencia:  $\alpha_{12}$  mide el efecto competitivo de la especie 2 sobre la especie 1 y  $\alpha_{21}$  mide el efecto competitivo de la especie 1 sobre la especie 2. Esto significa que al multiplicar  $N_2$  por  $\alpha_{12}$  lo convierte a números equivalentes de  $N_1$ . Si  $\alpha_{12} > 1$ , la especie 2 tiene un efecto inhibitor sobre la especie 1 menor que el que tiene la especie 1 sobre sí misma; mientras que si  $\alpha_{21} > 1$ ,

la especie 2 tiene un efecto inhibitorio mayor que el que la especie 1 tiene sobre sí misma. Reemplazando  $N$  por  $N_1$  y  $N_1$ -equivalentes en la ecuación logística obtenemos:

$$\frac{dN_1}{dt} = \frac{r_1 \cdot N_1}{K_1} (K_1 - (N_1 + \alpha_{12} \cdot N_2))$$
$$\frac{dN_1}{dt} = \frac{r_1 \cdot N_1}{K_1} (K_1 - N_1 - \alpha_{12} \cdot N_2) \quad (5)$$

De manera similar podemos escribir la ecuación para la especie 2:

$$\frac{dN_2}{dt} = \frac{r_2 \cdot N_2}{K_2} (K_2 - N_2 - \alpha_{21} \cdot N_1) \quad (6)$$

Estas son las ecuaciones del modelo.

Para describir las ecuaciones de este modelo debemos de hacer el estudio de las isoclinas. Sabemos que en la isocлина de  $N_1$ ,  $dN_1/dt=0$  y respectivamente para la isocлина de  $N_2$ ,  $dN_2/dt=0$  y obtenemos:

Para  $dN_1/dt=0$ :

$$\frac{r_1 \cdot N_1}{K_1} (K_1 - N_1 - \alpha_{12} \cdot N_2) = 0$$

las posibilidades son:

$$r_1 = 0$$

$$N_1 = 0$$

$$K_1 - N_1 - \alpha_{12} \cdot N_2 = 0 \quad \text{ó} \quad N_1 = K_1 - \alpha_{12} \cdot N_2$$

La isoclina es una recta y podemos graficarla conociendo 2 valores, que pueden ser (fig.3):

$$\text{cuando } N_1 = 0, N_2 = \frac{k_1}{\alpha_{12}}$$

$$\text{cuando } N_2 = 0, N_1 = k_1$$

Para  $dN_2/dt = 0$

$$\frac{k_2 \cdot N_2}{K_2} (K_2 - N_2 - \alpha_{21} \cdot N_1) = 0$$

las posibilidades son:

$$k_2 = 0$$

$$N_2 = 0$$

$$K_2 - N_2 - \alpha_{21} \cdot N_1 = 0 \quad \text{ó} \quad N_2 = K_2 - \alpha_{21} \cdot N_1$$

De nuevo aquí podemos obtener dos valores para la isoclina que es una recta (fig.3):

$$\text{cuando } N_2 = 0, N_1 = \frac{K_2}{\alpha_{21}}$$

$$\text{cuando } N_1 = 0, N_2 = K_2$$

Graficando las dos isoclinas en el mismo espacio de fase (fig.4), podemos determinar el comportamiento de las dos especies en competencia.

Existen 4 casos distintos:



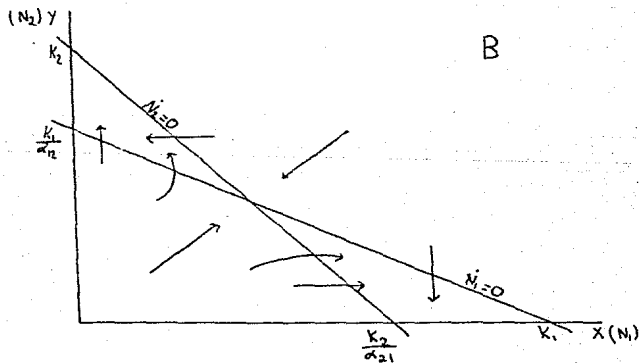
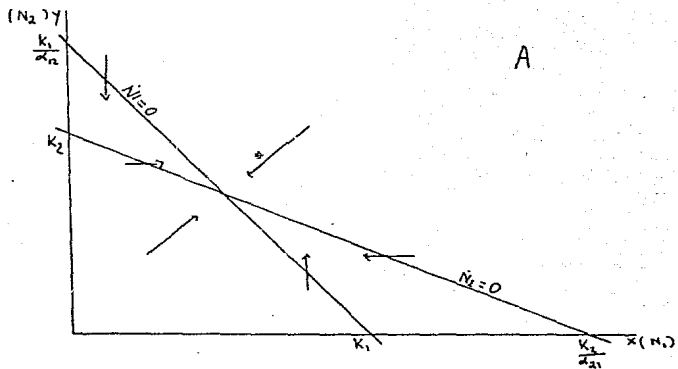


Figura 3. Espectro de fase para un sistema de competencia entre dos especies. En A, existe un equilibrio estable y en B, el equilibrio es inestable.

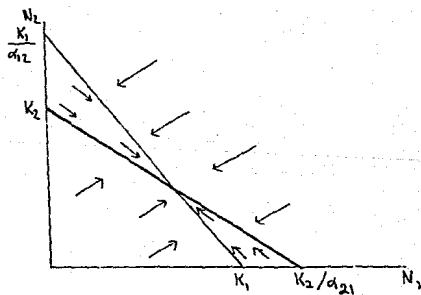
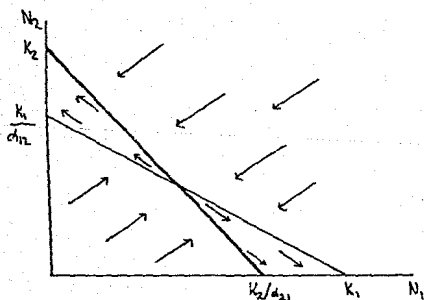
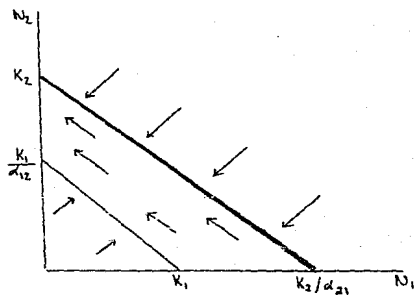
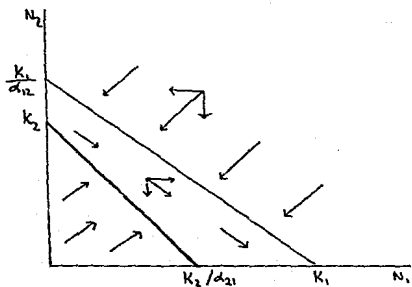


Figura 4. Espacio de fase para un sistema de competencia entre dos especies. En A sobrevive una sola especie, en E la otra especie sobrevive, en C el equilibrio es inestable y en D el equilibrio es estable.

1) En la figura 4a, una isoclina está arriba de la otra y los vectores indican que la especie de la isoclina que está hacia dentro se extingue mientras que la otra especie alcanza su capacidad de carga. La especie 1 ejerce más efecto sobre sí misma que lo que ejerce la especie 2 y también la especie 1 ejerce más efecto sobre la especie 2 que lo que ésta ejerce sobre sí misma.

2) En la figura 4b, es el caso opuesto al de la figura 4a.

3) En la figura 4c:

$$\begin{aligned} & K_2 > \frac{K_1}{\alpha_{12}} \quad \text{y} \quad K_1 > \frac{K_2}{\alpha_{21}} \\ \text{ó} \\ & K_1 < K_2 \cdot \alpha_{12} \quad \text{y} \quad K_2 < K_1 \cdot \alpha_{21} \end{aligned}$$

es decir que los efectos inter-específicos son más importantes que los efectos intra-específicos: ambas especies competidores inter-específicos fuertes. Hay dos puntos estables ( $N_1=K_1$ ,  $N_2=0$  y  $N_2=K_2$ ,  $N_1=0$ ) y un equilibrio inestable de la combinación de ambas especies  $N_1$  y  $N_2$ . Una especie siempre lleva a la otra a la extinción, el resultado final depende de las condiciones iniciales.

4) Por último, en la figura 4d:

$$\begin{aligned} & \frac{K_1}{\alpha_{12}} > K_2 \quad \text{y} \quad \frac{K_2}{\alpha_{21}} > K_1 \\ \text{ó} \\ & K_1 > K_2 \cdot \alpha_{12} \quad \text{y} \quad K_2 > K_1 \cdot \alpha_{21} \end{aligned}$$

hay una co-existencia estable porque los efectos intra-específicos son más importantes que los efectos inter-específicos (Begon & Mortimer 1981).

## MUTUALISMO.

El mutualismo puede definirse como una interacción en la cual ambas especies son beneficiadas.

Se ha encontrado que el mutualismo es una interacción importante entre especies, existen muchos ejemplos y se les encuentra en casi cualquier habitat.

La flora intestinal, involucrada en la degradación de celulosa y sustancias relacionadas, es mutualista de muchos vertebrados (Howard 1967 y Hungate 1966, citados en Boucher et al. 1982).

Los microbios ruminantes y algunos dentro de otros animales, sintetizan todas las vitaminas del complejo B, la vitamina K y los aminoácidos que contienen azufre. La degradación de urea da como resultado amoníaco y bióxido de carbono, la bacteria utiliza el amoníaco para sintetizar aminoácidos que luego adquiere el animal (B.H.Howard, 1967, citados en Boucher et al. 1982).

Se sabe que la fijación de nitrógeno se lleva a cabo en los nódulos de plantas leguminosas (Berlinger et al 1979, Brill 1977, Nutman 1963, Quispel 1974 y Wilson 1940) y en algunas no-leguminosas (Torrey et al 1979, Callanham et al 1978 y Bond 1963).

Las hormigas "alimentan" a las plantas verdes en las que viven trayendo desechos a sus nidos; éstos se descomponen y la planta puede absorberlos (Huxley 1973, Huxley 1980, Janzen 1974 y Risch et al 1977, citados en Boucher et al. 1982).

La polinización y la dispersión, son otros ejemplos de mutualismo, en donde el transporte se lleva a cabo a cambio de una sustancia energéticamente rica (néctar, tejido del ovario de la fruta), o, el consumo de algunas partículas que se transportan (pollen, nueces),

(Wheelwright 1982, citados en Boucher et al. 1985).

Exceptuando los experimentos pioneros de Witt y Gauss y el trabajo de Kropotkin (citados en Boucher, 1985), hasta muy recientemente (hace 10 o 15 años), los ecólogos han empezado a estudiar el mutualismo en una forma más formal y teórica.

Hoy en día existen algunos modelos generales de mutualismo (Vandermeer & Boucher, Travis & Post, May, citados en Boucher 1985) y algunos de temas particulares como polinización (Levin et al, Soberon & Martinez del Rio 1981), mimetismo, y sobre Hormigas y Acacias (citado en Boucher 1985).

Podría ser posible utilizar el mutualismo de un modo práctico en la agricultura (Boucher 1985). Podemos estimular el mutualismo que ya existe manipulando el medio ambiente o introduciendo "socios" más eficientes. Podemos controlar las plagas controlando sus mutualistas, y podemos crear un nuevo mutualista indirecto introduciendo o estimulando organismos benéficos como controles biológicos. Finalmente podemos utilizar el concepto de agricultura como un mutualismo, como una arma para guiar el manejo de un ecosistema (Boucher 1985). Pese a todo esto existe una falta de estudios teóricos de modelos de mutualismo en agronomía.

El objetivo de este trabajo es presentar un modelo teórico general, para estudiar las interacciones mutualistas entre especies. Decidimos escoger el sistema de la bacteria Rhizobium y las leguminosas por su importancia agronómica.

En este modelo teórico, se sacrifica su realismo para generar nuevas ideas, hipótesis y conceptos, y para mostrar áreas donde hay falta de información.

Antes de pasar a presentar el modelo de la tesis, es conveniente

revisar el modelo clásico de mutualismo (Vandermeer & Boucher, 1978). El modelo más usual está basado en las ecuaciones de Lotka-Volterra, substituyendo coeficientes positivos para indicar mutualismo en donde los coeficientes son generalmente negativos para indicar competencia. Así las ecuaciones son:

$$\frac{dx}{dt} = x(a - bx + cy) \quad (7)$$
$$\frac{dy}{dt} = y(e - fy + gx)$$

aquí de nuevo  $a, b, c, e, f$  y  $g$  son constantes positivas. Y asimismo, estas ecuaciones derivan de la ecuación logística,  $dx/dt = x(a - bx)$ , incluyendo los términos adicionales  $+cy$  y  $+gx$  para descubrir los efectos positivos de cada especie sobre su mutualista.

Debemos distinguir dos formas cualitativamente distintas de mutualismo, el mutualismo obligado y el mutualismo facultativo. Un mutualista obligado es una especie que requiere la presencia de otra especie para su sobrevivencia. Un mutualista facultativo es aquel que se ve beneficiado de alguna manera de la asociación con otra especie pero que puede sobrevivir en su ausencia.

El concepto de mutualismo facultativo vs. obligado se representa en términos de las capacidades de carga de las dos especies. La capacidad de carga,  $K_x$ , se define como el valor de  $x$  que satisface las condiciones:  $x \neq 0$ ,  $y = 0$  y  $dx/dt = 0$ ; esto es, la densidad de la población que la especie  $x$  va a alcanzar eventualmente en ausencia de la especie  $y$ . De la ecuación (7) vemos que la capacidad de carga en nuestro modelo es:

$$K_x = \frac{a}{b}$$

$$K_y = \frac{c}{f}$$

Aunque el sentido común nos da la noción de que la capacidad de carga debe de ser un número positivo, es útil en este contexto que sea positivo o negativo. Se define que para la condición en que  $K$  es positivo, existe un mutualismo facultativo y cuando  $K$  es negativo se presenta el caso de un mutualismo obligado (en este caso la capacidad de carga es un concepto abstracto con un sentido biológico difícil de interpretar) (Vandermeer y Boucher, 1978).

Ahora podemos seguir con el análisis del modelo viéndolo desde el punto de vista gráfico, haciendo el análisis de las isoclinas, como se hizo para el caso de competencia y el de predador-presa. En la figura 5, se muestran las posibles configuraciones de las ecuaciones originales, graficando las isoclinas ( $dx/dt=0$  y  $dy/dt=0$ ) en el plano  $y$  vs  $x$ . Las  $K$ 's son los interceptos de éstas isoclinas con sus ejes correspondientes. Cuatro gráficas representan condiciones estables ( $S1-S4$ ) y las otras cuatro condiciones inestables ( $U1-U4$ ). Las flechas indican la dinámica del comportamiento del sistema.

En el caso  $S1$  las dos especies son mutualistas facultativos con una configuración matemática estable. Esta situación da como resultado una co-existencia estable de ambas especies. En el caso  $U1$ , también las especies son mutualistas facultativos, pero con una configuración matemática inestable. Aquí ambas especies aumentan su densidad de población indefinidamente (diremos que las especies persisten).

En los casos  $S2$  y  $U2$  ambas especies son mutualistas obligados. En la figura  $S2$ , ambas especies se extinguen, esto es una consecuencia matemática necesaria de la condición  $\alpha_{12} \cdot \alpha_{21} < 1$  (los efectos intra-específicos negativos son mayores que los efectos

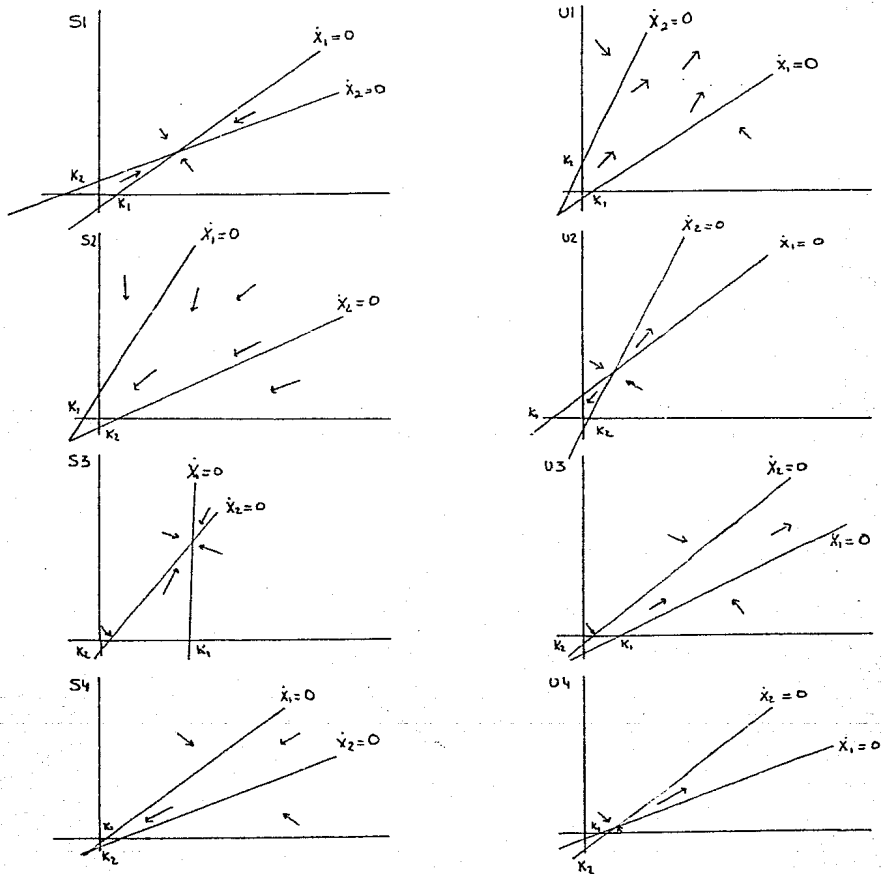


Figura 5. Espacio de fase para un sistema de mutualismo entre dos especies. S1: equilibrio estable. U1: persistencia. S2: extinción. U2: equilibrio estable salvo para valores chicos de  $x_2$ . U3: persistencia salvo para valores chicos de  $x_2$ . S3: extinción del mutualismo. U4: persistencia salvo para valores pequeños de  $x_2$ .



inter-específicos positivos, acoplados a  $K1 < 0$  y  $K2 < 0$ ; sin embargo no es una posibilidad que esperemos que persista en la naturaleza. En el caso U2 se presenta una situación indeterminada, en la cual para densidades muy altas ambas poblaciones persisten, mientras que para densidades bajas ambas especies se extinguen. Este es el caso en el que generalmente uno piensa cuando se considera un mutualismo obligado; es decir que existe una densidad de población mínima debajo de la cual ninguna especie pueda sobrevivir, pero arriba de la cual ambas especies aumentan.

Los casos S3 y U3, que tienen la especie 1 como facultativa y la especie 2 como obligada, presentan otro tipo de indeterminación. Para los puntos iniciales cerca del origen, la trayectoria puede estar muy cerca del eje X1 antes de encontrar la isoclina X2. Desde un punto de vista biológico, esto significa esencialmente que la especie obligada 2 se extinguirá; después de que esto ocurra, la especie facultativa aumentará hasta K1. Para los puntos iniciales lejos del origen, S3 muestra una co-existencia estable como en S1, mientras que U3 muestra una persistencia como en U1.

Los casos S4 y U4 muestran también una especie facultativa y la otra obligada. El caso S4 es similar al caso S2 con la excepción de que sólo el mutualista obligado se extingue. Y asimismo el caso U4 comparte la indeterminación del caso U2 pero sólo se extingue el mutualista obligado.

Podemos resumir los resultados biológicos:

(1) Si ambos mutualistas son facultativos (casos S1 y U1), ambos sobreviven independientemente del tamaño de los coeficientes de interacción.

(2) Si ambos mutualistas son obligados pueden ya sea extinguirse (si los coeficientes de interacción interespecífica son pequeños, como es

el caso de S2), o por un nivel crítico de densidades poblacionales arriba del cual ambas persisten y debajo del cual ambas se extinguen (si los coeficientes de interacción interespecífica son grandes, como es el caso de U2). Es importante tomar en cuenta que para los mutualistas obligados, una estabilidad matemática implica la extinción, mientras que una inestabilidad matemática permite la posibilidad de que por lo menos haya una persistencia de las especies.

(3) Si un mutualista es facultativo y el otro obligado, existen tres posibilidades: primero, el mutualista obligado se extingue y el facultativo sobrevive (caso S4); segundo, ambas pueden persistir o coexistir (casos S3 y U3), y tercero, existe un nivel de densidad población al arriba del cual ambas persisten y debajo del cual el mutualista obligado se extingue y el facultativo persiste (caso U4).

Los resultados muestran que los cuatro casos inestables permiten la posibilidad de una co-existencia (ambas especies están en un equilibrio matemáticamente estable) o una persistencia (ambas especies aumentan indefinidamente), mientras que dos de los casos estables aseguran la extinción de una o ambas especies. Dos casos llevan a una co-existencia o persistencia (S1 y U1): uno de ellos es estable localmente (S1) y el otro inestable (U1). Dos casos llevan a la extinción de las especies (S2 y S4), ambas siendo estables localmente. Cuatro casos muestran resultados de situaciones indeterminadas (S3, U2, U3, U4) en los cuales hay extinción, persistencia o co-existencia, dependiendo de las condiciones iniciales. Tres de estas situaciones son inestables localmente (U2, U3, U4) y una estable (S3).

El significado biológico de la diferencia entre los dos tipos de pares facultativo-obligado (S3 y U3 vs. S4 y U4) está basada en el tamaño de la población del mutualista obligado para que se establezca con éxito cuando el mutualista facultativo está en el nivel de su

capacidad de carga. En los casos S3 y U3, se puede establecer bajo estas condiciones una población muy pequeña de mutualistas obligados, pero en el caso U4 la población debe de estar arriba de cierto umbral. Si ambos mutualistas son obligados (caso S2), ambos deben de estar arriba de cierto umbral para un establecimiento exitoso de alguno de ellos. Cuando ambas poblaciones son muy pequeñas, la única forma de que haya un establecimiento exitoso es que ambos mutualistas sean facultativos.

En el caso del mutualismo la magnitud relativa de los coeficientes de interacción nos dice poco acerca del modelo. Si los coeficientes son pequeños (de tal forma que  $\alpha_{12}, \alpha_{21} < 1$ ) el sistema es estable localmente, mientras que si son grandes, el sistema es inestable. Pero el problema de la estabilidad matemática está relacionada pobremente con los resultados de interés biológico. La consideración más importante parece ser si el mutualista es obligado o facultativo. Si ambas especies son facultativas, sobreviven independiente de la estabilidad local. En el caso de los mutualistas obligados, entran en juego las magnitudes relativas de los coeficientes de interacción pero en una forma no intuitiva. Si estos coeficientes son suficientemente pequeños, el análisis puede mostrar un equilibrio aunque el mutualista obligado se extinga (casos S2, S3 y S4). Se debe analizar las capacidades de carga y las condiciones iniciales para encontrar el destino del mutualista obligado.

Estos resultados sugieren primero que el mutualismo es un proceso estable, con muchas situaciones que pueden llegar a una co-existencia. Pero aún más importante es el hecho de que el método del análisis de estabilidad local tiene poco que ofrecer si se buscan resultados biológicos (Vandermeer & Boucher, 1978).

#### ANTECEDENTES

El nitrógeno gaseoso es el elemento más abundante de la atmósfera terrestre, sin embargo muy pocos son los organismos capaces de reducirlo a amonio (fijación de nitrógeno) e incorporarlo en compuestos orgánicos (asimilación de nitrógeno) (Burns & Hardy 1975, citados en Ayala 1983).

La enzima nitrogenasa es la responsable de la reducción de nitrógeno atmosférico hasta amonio; lo cual involucra la ruptura de un triple enlace y un gasto energético (Phillips 1930, Patu et al. 1961, citados en Ayala 1983).

A través de este proceso algunos organismos obtienen de la atmósfera el nitrógeno necesario para la biosíntesis de macromoléculas. Los organismos que pueden llevar a cabo la fijación biológica de nitrógeno son microorganismos procarióticos que incluyen bacterias y algas azul-verdes (Burns & Hardy 1975, citados en Ayala 1983). Algunos de estos microorganismos fijan nitrógeno en vida libre (Postgate 1970, citados en Ayala 1983). Hay otros que sólo pueden hacerlo en asociaciones simbióticas (Skinner 1970, Roberts & Brill 1981, citados en Ayala 1983). En el último caso, se encuentran los actinomicetos que fijan nitrógeno asociados con los angiospermas formando nódulos en su raíz (Bond 1974, cit. Ayala 1983). Otro ejemplo de esto son las bacterias gram-negativas del género Rhizobium que para poder fijar nitrógeno requieren interactuar con las leguminosas a través de la formación de nódulos en la raíz (Dart 1974, Robertson & Farnden 1983).

La simbiosis de Rhizobium con las leguminosas beneficia a ambas: la planta puede fijar nitrógeno atmosférico y no tiene que depender del nitrógeno del suelo y las bacterias aumentan su población (en el suelo) gracias al exudado de las raíces de la planta.

Esta simbiosis tiene una gran importancia sobre todo en la agricultura, en donde la deficiencia de nitrógeno se ha solucionado básicamente con la aplicación de fertilizantes nitrogenados de origen químico. Estos productos tienen un continuo incremento en su costo debido al uso de algunos hidrocarburos para su elaboración, por lo tanto, conociendo la gran reserva de nitrógeno que hay en la atmósfera, el estudiar la forma de captarlo biológicamente ayudaría a disminuir los costos de producción evitando el uso de fertilizantes químicos.

#### LAS LEGUMINOSAS.

La familia leguminosae contiene tres subfamilias incluyendo las Mimosoideae y Caesalpinoideae que contienen principalmente árboles y arbustos, y la subfamilia Papilionoideae (Lotoideae) que contiene principalmente hierbas y muchas de las verduras comunes. La mayoría de las especies de estas subfamilias forman nódulos con cepas de Rhizobium (Vincent 1974).

Existen pocos casos bien documentados de la formación de nódulos por Rhizobium fuera de las leguminosas (Vincent 1974, Robertson & Farnden 1980, Beringer et al. 1979, Trinick 1973).

Las leguminosas están distribuidas en todo el mundo y tienen el 2o. o 3er. lugar, dentro de las plantas que florecen, en el número de especies que contienen. La mayoría de las especies son árboles o arbustos, por lo general en habitats tropicales (Vincent 1974).

Las especies cultivadas incluyen comida, forraje y pastizales, así como algunas que producen otros productos (como madera), (Vincent 1974).

Son dos, los beneficios que se pueden incrementar al utilizar

leguminosas noduladas. El primero es la independencia de la planta del nitrógeno del suelo; el segundo es el status de nitrógeno del suelo potencialmente mejorado consecuente al uso de la leguminosa. Sin embargo, el segundo aspecto no es siempre válido si se cosechan los granos o puntas de las plantas. Bajo éstas circunstancias la ganancia en nitrógeno del suelo puede no exceder la mitad de lo que fijó la planta y puede acercarse a cero (Vincent 1974).

Existen varios factores que afectan de alguna forma el proceso de fijación de nitrógeno, a través de su efecto sobre las plantas (Dart 1974, Graham 1991). Algunos de estos factores son: 1) El grado de humedad en el suelo, ya que un nivel muy alto o muy bajo de humedad es nocivo para la asimilación de agua de la planta y por lo tanto para su crecimiento. 2) La temperatura, porque el límite inferior de temperatura para la simbiosis depende de la planta hospedera aunque puede modificarse según la cepa de Rhizobium. La temperatura óptima varía y es alrededor de 20°C para plantas de clima templado y de 27-30°C para plantas tropicales. 3) Un suministro de CO<sub>2</sub> en la atmósfera estimula la fijación de nitrógeno, lo cual puede deberse a un aumento en la fotosíntesis (Wilson 1940).

#### RHIZOBIUM.

El criterio utilizado actualmente para incluir una bacteria en el genero Rhizobium es su habilidad para formar nódulos en la raíz de las leguminosas (Vincent 1974). Rhizobium está asociado con Agrobacterium y Chromobacterium en la familia Rhizobiaceae dentro del orden Eubacteriales. Estas bacterias son gram-negativas, tienen movilidad

gracias a un flagelo (cuando son jóvenes), no forman endosporas, son aeróbicas. La movilidad o chemotaxis de Rhizobium no es requerida para la infección o desarrollo del nódulo. En ausencia de la leguminosa, Rhizobium puede utilizar nitrógeno atmosférico siempre y cuando los niveles de oxígeno no sean muy altos (Verma & Long 1983). Algunos requerimientos de éstas bacterias son: biotina, tiamina, hierro (para la síntesis de haemoglobina) y calcio (Vincent 1974, Robertson & Farnden 1980). La temperatura óptima para el crecimiento de Rhizobium es de 25-30°C en un medio completo (extracto de levadura).

#### \*CLASIFICACION.

Muy recientemente, se ha reclasificado a Rhizobium en dos géneros: el género Rhizobium que incluye a las bacterias de rápido crecimiento y el género Bradyrhizobium que incluye a las bacterias de lento crecimiento. Sin embargo, en este trabajo, se utiliza la clasificación anterior.

Se han clasificado a las bacterias del género Rhizobium de varias maneras:

1) Se ha dividido el género en seis especies y otros grupos no tan bien definidos, basados en la especificidad para el hospedero (la leguminosa). Estas seis especies son R. trifoli, R. leguminosarum, R. phaseoli, R. meliloti, R. japonicum y R. lupini ( Vincent 1974, Robertson & Farnden 1980).

2) Las primeras cuatro especies se han agrupado dentro del grupo de las bacterias Rhizobium de rápido crecimiento ya que el tiempo promedio de generación de los organismos, crecidos en medio rico a 30° C, bajo condiciones aeróbicas es de 3-4 hrs (Robertson & Farden 1980).

Las dos últimas especies están clasificadas en comparación, como de lento crecimiento con un tiempo promedio de generación de 6-8 hrs., bajo condiciones similares (Robertson & Farnden 1980).

Los otros grupos incluyen Rhizobium de lento y rápido crecimiento, que no pueden clasificarse dentro de estas seis especies, como Rhizobium lotus y Rhizobia coupea (garbanzo), (Robertson & Farnden 1980).

La subdivisión del género Rhizobium en diferentes especies, basada en la especificidad de infección para un grupo particular de planta, se ha visto que es ya inadecuada. Algunas cepas de Rhizobium pueden formar nódulos con varios grados de eficiencia, en términos de su habilidad para fijar nitrógeno, en distintas leguminosas. La formación de nódulos efectivos o inefectivos puede depender de factores tanto de la planta como de la bacteria (citado en Robertson & Farnden 1980).

Las especies de lento crecimiento excretan una gran proporción del nitrógeno fijado como amonio (R. japonicum y R. coupea). Se han examinado pocos casos que permitan una generalización, pero existe la posibilidad de que la hidrogenasa esté asociada a las Rhizobia de rápido crecimiento y esté ausente en las Rhizobia de lento crecimiento.

Recientemente, se han presentado evidencias que sugieren que algunos de los genes asociados con la simbiosis, forman parte de plásmidos grandes (Johnston et al 78). Esta observación refuerza la hipótesis de que la inestabilidad de la eficiencia de algunas cepas pueda deberse a la pérdida del plásmido.

#### CLASIFICACION DE RHIZOBIUM DE ACUERDO AL TIPO DE LEGUMINOSA QUE INFECTA

Especie de Leguminosa a la que infecta

Rhizobium

R. leguminosarum chicharo (Pisum sp., Vicia sp., Lathyrus sp.,  
Lens sp., Cicer sp.)



<u>R. trifolii</u>	trébol ( <u>Trifolium sp.</u> )
<u>R. phaseoli</u>	frijol ( <u>Phaseolus vulgaris</u> )
<u>R. meliloti</u>	alfalfa ( <u>Medicago sp.</u> , <u>Melilotus sp.</u> , <u>Trigonella sp.</u> )
<u>R. lupini</u>	altramuz ( <u>Lupinus sp.</u> , <u>Ornithopus sp.</u> )
<u>R. japonicum</u>	soya ( <u>Glicine max</u> )
<u>R. lotus</u>	<u>Lotus cornulatus</u>

#### \*LA BACTERIA EN EL SUELO.

Pese a la importancia de entender los factores que afectan los números de Rhizobium en el suelo, la información con que se cuenta es fragmentaria y cualitativa.

Rhizobium, como cualquier otra bacteria del suelo estimulada por la rizosfera es más numerosa en la vecindad de las raíces de la planta que en el suelo lejos de las raíces. En particular, se sabe que las leguminosas estimulan más a Rhizobium que los pastos (Vincent 1974).

Los factores que controlan la colonización en la zona de la raíz son la naturaleza de los exudados de la raíz, las propiedades del suelo y algunos atributos celulares que contribuyen a la competitividad de un microorganismo en la naturaleza.

La sobrevivencia de Rhizobium en el suelo libre del hospedero

leguminoso, depende de las condiciones del suelo, la cepa y los tipos de plantas que están creciendo en ese suelo. No se pueden hacer generalizaciones. Rhizobium puede sobrevivir en suelos en ausencia de leguminosas aunque los números son más elevados cuando esta presente la leguminosa hospedera (Dart 1974).

La multiplicación de Rhizobium ocurre en la rizosfera aún cuando las condiciones no son favorables para la infección y la nodulación (Dart 1974).

Existen un sin número de factores que afectan la sobrevivencia de Rhizobium en el suelo, algunos de ellos son (Vincent 1974):

1) Las altas temperaturas (principalmente en suelos húmedos y arenosos) y las sequías (principalmente en suelos arenosos) afectan la sobrevivencia de Rhizobium en el suelo (Gibson 1961).

2) Existe un pH crítico debajo del cual no crece Rhizobium (Lowendorf 1980). Las distintas especies de Rhizobium difieren en su tolerancia a la acidez y a la alcalinidad. El orden siguiente va decreciendo en la tolerancia al ácido (o aumentando la tolerancia al álcali): especies de crecimiento lento, R. leguminosarum, R. trifolii, R. phaseoli, R. meliloti.

3) Las bacterias fijadoras de nitrógeno dependen principalmente de un abastecimiento amplio de carbono y niveles bajos de nitrógeno disponible. Rhizobium además en cultivo, requiere de CO<sub>2</sub> para su crecimiento (Lie 1974).

4) Algunas plantas contienen material tóxico contra Rhizobium, incluso algunas leguminosas y esto puede afectar la sobrevivencia del inóculo de la semilla (Graham 1982, Alexander 1982). - También hay toxinas microbianas, de hongos y actinomicetos que actúan en contra de Rhizobium (Lowendorf 1980, Angle et al. 1981).

El mayor beneficio que las bacterias obtienen de la asociación

simbiótica es el beneficio que obtienen de la rizosfera de las leguminosas. Algunos de los efectos estimulatorios pueden deberse a vitaminas (biotina principalmente) detectadas en los exudados de las raíces.

#### LA SIMBIOSIS.

La respuesta de la simbiosis al medio ambiente está determinada principalmente por la constitución genética y fisiológica de la planta hospedera. Sin embargo, los resultados pueden modificarse y se puede obtener una gran variación según la cepa de Rhizobium que se use (Lie 1974).

Los nódulos fijadores de nitrógeno se forman en las raíces de las leguminosas como resultado de la infección de microorganismos del género Rhizobium que viven libres en el suelo. Estos microorganismos penetran en las raíces de la leguminosa por un hilo de infección que se inicia generalmente en un pelo de la raíz, (para varias especies no se han encontrado hilos de infección en los pelos de la raíz o nódulos, implicando la existencia de una forma distinta de infección, como por ejemplo a través de heridas (Dart 1974)). A la infección del pelo de la raíz sigue la inducción de la actividad meristemática en la corteza de la raíz adyacente al punto de infección. El hilo de infección pasa de la célula del pelo de la raíz a través o entre las células corticales externas al meristemo del nódulo, en donde se liberan las rhizobias al citoplasma de las células meristemáticas poliploides. Las rhizobias se liberan de la punta del hilo de infección rodeadas por la membrana del hilo que ahora se convierte en la membrana peribacteroide. Estas membranas se sintetizan por la planta. La división de las rhizobias

dentro del citoplasma de la planta continúa hasta que el citoplasma está casi totalmente lleno con bacteroides rodeados individualmente o en pequeños números por las membranas peribacteroides. En alguna etapa durante esta fase del desarrollo del nódulo, los bacteroides desarrollan la habilidad para fijar nitrógeno y excretar amonio. En ausencia de nitrógeno aplicado externamente este amonio puede servir como única fuente de nitrógeno para el crecimiento de la planta. El incremento en el nivel de la actividad de fijación de nitrógeno en los bacteroides durante el desarrollo del nódulo sigue la misma cinética que el aumento en los niveles de leghaemoglobina y enzimas de la asimilación de amonio que se encuentran en el citoplasma de la planta rodeando a los bacteroides. Las enzimas de la asimilación de amonio transforman el amonio excretado por los bacteroides o compuestos amino que son transportados lejos de los nódulos a otras partes de la planta por el xilema. Las enzimas en el citoplasma de la planta también están involucradas en el metabolismo del fotosintato que llega a los nódulos vía el floema. Algunos de los productos de este metabolismo son usados por los bacteroides como una fuente de energía para mantener la fijación de nitrógeno (Robertson & Farnden 1960).

Antes de que la simbiosis se establezca, la planta hospedera tiene que pasar por un período de falta de nitrógeno. Tanto la formación de nódulos como la actividad fijadora de nitrógeno se reducen considerablemente en presencia de niveles moderados o altos de nitrógeno combinado. Dada la cantidad de nitrógeno en la atmósfera del suelo, éste no debe de ser un factor limitante, para la fijación de nitrógeno (Lie 1974).

Una de las primeras respuestas visibles a las interacciones entre

Rhizobium libres en el suelo y las raíces de la leguminosa hospedera, aparte de la estimulación del crecimiento de Rhizobium en la rizosfera es una deformación marcada o un enroscamiento de los pelos de la raíz. La deformación es más común en pelos que se encuentran a más de 5 mm. de la punta de la raíz (Dart 1974). El grado de distribución del pelo de la raíz depende de la planta, la cepa de Rhizobium y la posición en la raíz (los números promedio de los pelos infectados en 12 especies de trébol inoculadas con la misma cepa de Rhizobium varían de 0.8 a 32 en plantas de 11 días y no está correlacionado con la longitud de la raíz ni el peso de la semilla) (Dart 1977). La deformación y la infección de los pelos de la raíz parecen ser procesos distintos. Se sabe poco acerca de las bases bioquímicas y la posible unión específica de Rhizobium a la superficie de las raíces de las leguminosas, aunque se han propuesto interacciones de tipo polisacárido-polisacárido y polisacárido-lectina (Dart 1974, Graham 1982). Es posible que las lectinas en las superficies de los pelos de la raíz de la leguminosa determinen la especificidad del hospedero para una especie particular de Rhizobium. La infección de las células del pelo de la raíz se lleva a cabo cerca de los puntos de crecimiento de los pelos de la raíz, que están enrollados o ramificados. El número de infecciones no está relacionado con la efectividad de las cepas. La infección empieza de 3 a 20 días después de la germinación dependiendo de las especies. Los hilos de infección se ven claramente 48 hrs. después de la inoculación de las raíces. Se infectan aproximadamente 2% de los pelos de la raíz y de éstos sitios de infección sólo entre el 1 y el 20% establecen nódulos (Robertson & Farnden 1980, Vance & Johnson 1981).

El inicio del hilo de infección se observa como un hinchamiento y la aparición de una callosidad en la pared celular del hospedero en el sitio de la infección y un aumento en la opacidad del citoplasma. El

núcleo de la célula del pelo de la raíz infectada que está generalmente cerca del punto de iniciación del filamento, se hincha casi el doble de su tamaño normal y se mueve hacia la base de la célula, en frente de la punta del hilo de infección. Sólo las bacterias en la punta del filamento continúan dividiéndose (Dart 1974).

Las enzimas pectolíticas que degradan la pared de la raíz pueden ser reducidas por un polisacárido específico liberado por Rhizobium. Estas enzimas no son muy activas a pH's ácidos (4.5), se sugiere que ésta puede ser la etapa de la infección sensible al ácido (Dart 1974).

El proceso por el cual el filamento de infección pasa a través de la pared celular de la célula del pelo de la raíz a la célula cortical adyacente no se ha estudiado. Sin embargo, parece ser que éste proceso debe involucrar una combinación de la presión de las rhizobia dividiéndose en la punta del filamento, acoplado a la síntesis de las membranas del plasma de la planta y la degradación y la resíntesis del material de pared. Rhizobium siempre estará rodeado por la pared del hilo de infección y se formará un hilo de infección intercelular entre la célula del pelo de la raíz y las células corticales (Robertson & Farnden 1980).

Durante el período de crecimiento del hilo de infección a través de 3 a 6 capas de células corticales externas de la raíz, se inicia la actividad meristemática en un pequeño grupo de células en la corteza de la raíz directamente enfrente de la punta del hilo de infección. El crecimiento del hilo continúa dentro de ésta región meristemática en donde se liberan los rhizobia de la punta al fondo de las células meristemáticas. Las células en la zona meristemática son predominantemente poliploides y aquí es donde se establecen las Rhizobia del nódulo. El resto de la zona meristemática consiste de células diploides que se dividen para formar un sistema radial de

células intersticiales no infectadas en el nódulo maduro. Al parecer éstas células permiten la difusión gaseosa a través del nódulo (Robertson & Farnden).

Rhizobium se libera de la punta del hilo de infección al citoplasma de las células meristemáticas poliploides por endocitosis. Este proceso fagocítico, tiene como consecuencia que las bacterias queden rodeadas por la membrana peribacteroide. La liberación de Rhizobium dentro de las células meristemáticas está relacionado con el hecho de que la punta del hilo de infección en esas células contiene muy poco o ningún material de pared en el hilo. Se ha propuesto que la falta de material de pared en las puntas de los hilos resulta de un cambio, en la función del aparato de Golgi, para la síntesis de las membranas del plasma y las paredes de las células de la planta, tal que la velocidad de la síntesis de membrana permanece constante o aumenta mientras que la velocidad de síntesis o deposición de material de pared disminuye (Robertson & Farnden 1980).

Después de que las rhizobia se liberaron de la punta del hilo de infección, aunque siguen rodeados por la membrana de la planta, continúan dividiéndose hasta que el citoplasma de las células de la planta esté lleno de bacteroides. El número y la forma de bacteroides varía según las leguminosas y éste número parece depender del hospedero. El volumen de la cepa bacteroide varía con la edad del nódulo, la cepa de Rhizobium es afectada por la temperatura de la raíz y la cantidad de luz que recibe la planta (Robertson & Farnden 1980).

La maduración de las bacterias en bacteroides involucra un gran número de cambios bioquímicos, los cambios obvios son la producción de leghaemoglobina y de las enzimas necesarias para la fijación de nitrógeno; también ocurren cambios morfológicos, para que éstos cambios

ocurran parece razonable postular que las células del hospedero, están involucradas ya sea en transferir información genética a la bacteria o desbloquear la información genética que ya está presente pero que está reprimida en los organismos en su estado libre (F.J. Bergensen (In Press)).

El nitrógeno en el suelo, bajo cualquiera de sus formas, afecta la nodulación y la fijación de nitrógeno de varias maneras: con concentraciones moderadas de nitrato, nitrito, amonio y urea, todas las etapas del proceso de nodulación parecen inhibirse, como el número de infecciones, el tiempo de aparición del primer nódulo y el número y peso de los nódulos formados (Robertson & Farnden 1980).

Por otro lado, muy pequeñas cantidades de nitrato y nitrito (10-20 µg N/planta) estimulan la infección inicial de Trifolium glomeratum y T. repens pero se retrasa si la cantidad es mayor de 40 µg N (Dart 1974).

El efecto depresivo de un suelo muy ácido sobre el sistema simbiótico es muy conocido. Se ha observado que aparte de la reacción per se, existen otros efectos colaterales responsables de la inhibición observada. En suelos ácidos puede haber un aumento en la asimilación de metales pesados, por ejemplo manganeso y aluminio, que son tóxicos particularmente en alfalfa y frijol. Por otro lado, nutrientes como calcio y molibdeno, ambos esenciales para la simbiosis, están menos accesibles en suelos ácidos (Lie 1974).

El calcio tiene también una gran influencia sobre la simbiosis (Robertson & Farnden 1980, Freire 1982). El requerimiento de calcio de las leguminosas de clima templado es bastante alto, sobretudo cuando dependen de una fijación de nitrógeno simbiótico. La cantidad de calcio necesaria para el crecimiento de las bacterias y de la planta hospedera es inferior al requerido por la simbiosis. En particular, se requieren



altas concentraciones de calcio para el período directamente posterior a la inoculación (iniciación del nódulo) mientras que se requiere menos calcio para el crecimiento y actividad del nódulo. Existe una fuerte interacción entre el calcio y el pH del medio: a un pH bajo se necesita más calcio para la formación de nódulos. Esto puede deberse a la pobre asimilación de calcio en suelos ácidos (Lie 1974).

Asimismo, la concentración de sales y los niveles de cobre, molibdeno y manganeso en el medio de la raíz afectan la nodulación (Lie 1974).

## LOS NÓDULOS.

La forma del nódulo es una característica de la planta hospedera más que de la cepa de Rhizobium (Vincent 1974, Dart 1974). La forma de los nódulos está determinada por el patrón de la actividad meristemática y puede clasificarse a grosso modo en redonda, ovalada, alargada, ramificada hasta coraloides y nódulos de collar. Al parecer no hay una relación estricta entre la forma del nódulo y la clasificación botánica (Dart 1977).

El nódulo es generalmente exógeno al periciclo de la raíz. Se reconocen cuatro zonas principales en el nódulo: 1) la corteza del nódulo: la zona exterior, hecha de algunas capas de células parenquimatosas, no infectadas, que derivan del meristemo del nódulo y que son más pequeñas y compactas que aquellas de la corteza de la raíz; 2) la zona meristemática: establecida aparentemente como respuesta de las células tetraploides al filamento de infección cercano, es la región que crece y provee al tejido especializado del nódulo (incluyendo la corteza del nódulo); 3) el sistema vascular: la eficiencia del sistema simbiótico depende del establecimiento de un sistema vascular en el nódulo y su conexión con los elementos vasculares de la raíz. La conexión puede ser única o múltiple. 4) la zona bacteroide: ésta zona está formada de células parenquimatosas infectadas y no infectadas, la proporción relativa de éstas depende de las especies del hospedero y de la asociación. Prácticamente todas las células están infectadas en caso de una asociación efectiva con garbanzo (Vigna sinensis), cacahuete (Arachis hypogaea) y trebol (Trifolium) pero en otros huéspedes como frijol (Phaseolus vulgaris)

Sesbania, (anagana), la proporción puede disminuir hasta la mitad (Vincent 1974).

La longevidad de un nódulo refleja usualmente las costumbres de crecimiento del hospedero. Los nódulos de las leguminosas herbáceas son relativamente frágiles y funcionan por un período de tiempo relativamente corto durante el crecimiento vegetativo activo de la planta. Remover las puntas de la planta, las condiciones de humedad desfavorables, la falta de fotosíntesis y el ataque de nemátodos, insectos y hongos puede llevar a la desintegración del nódulo. Las especies perennes pueden producir nódulos frescos cada estación o los nódulos pueden persistir por varios años. La necrosis del nódulo empieza en el área más vieja (basal) de la zona bacteroide. Por autólisis se desintegran las células hospederas y se colapsan sus paredes (Vincent 1974).

El número de nódulos formados en relación al número de pelos de la raíz infectada varía mucho.

Cuando una planta forma pocos nódulos son por lo general grandes y eficaces, mientras que si son ineficaces se forman en mayor número (Plutman 1949). Esto puede ser en parte debido a las diferencias en la fisiología del nódulo que influyen la susceptibilidad de la raíz, así como a un incremento en la proporción de infecciones exitosas (Dart 1974).

Por otra parte, los nódulos eficaces tienen un volumen de tejido de nódulo mucho mayor que los nódulos ineficaces y funcionan por mayor tiempo.

Una población grande de Rhizobium que nodula, promueve la infección

y nodulación tempranas. El número de infecciones aumenta casi exponencialmente hasta que se forma el primer nódulo (el trébol se duplica con cada duplicación del logaritmo de Rhizobium trifolii), después, el desarrollo de éstos primeros nódulos inhibe las infecciones subsecuentes. Si se retrasa la formación de nódulos, la mayor parte de la raíz es susceptible a la infección. Los nódulos son sumideros poderosos para carbohidratos, la nodulación puede estar limitada por disponibilidad de fotosintetasa. Y también, el retrasar la inoculación con respecto a la época de siembra aumenta la formación de nódulos y disminuye el tiempo entre la inoculación y la nodulación. Esto es válido para T. pratense, Medicago truncatula, Trifolium subterraneum, Pisum sativum y Glycine max (Dart 1974).

El color de los nódulos varía por lo general, de rosa a café-rojizo, si es activo, debido a la leghaemoglobina en las células llenas de bacteroides, pero puede ser café oscuro si la cáscara contiene tanino o puede ser blanco y aguado si la cáscara es grande. Algunos nódulos expuestos a la luz pueden ser verdes por la chlorofila (Dart 1977).

Análisis serológicos de Rhizobium, aislados de nódulos, sugieren que un nódulo está generalmente formado por una sola cepa (Dart 1977). Aunque nódulos adyacentes en la misma planta puedan estar formados por cepas distintas de un inóculo mixto. La proporción de nódulos formados por una cepa de un inóculo mixto, no tiene que estar relacionado a la proporción en el inóculo inicial y la selección varía con la variedad del hospedero.

Hay factores tanto del hospedero como de la bacteria en la

competencia entre cepas para formar nódulos. Los seromas de la planta y la bacteria pueden interactuar para producir una nodulación ineficaz. La misma cepa de Rhizobium puede formar nódulos eficaces en una especie y nódulos ineficaces en otra especie muy cercana, dentro del mismo grupo de inoculación cruzada. La simbiosis puede fallar en cualquier paso de su desarrollo (Dart 1974).

En cultivos de avena, Perkins (1925), muestra que se obtiene una nodulación máxima en soya con solo 50 rhizobia por semilla y que solo 10 pueden ser suficientes.

La implicación de experimentos con trébol es que se necesitan muy pocas rhizobia ( $10^3$ - $10^4$  por plantula) en buenas condiciones para asegurar la nodulación en una infección.

Los nódulos se forman generalmente después de que empiezan a expandirse las primeras hojas y a fotosintetizar, aunque las raíces se infectan 3-4 días antes.

Un nódulo puede ser visible en 24 hrs. a partir de que se infectaron los pelos de la raíz en retoños muy viejos. Esto sugiere que las condiciones para la iniciación del nódulo toman cierto tiempo para desarrollarse en el retoño de la raíz y se requiere algún factor asociado con la fotosíntesis temprana.

El número de infecciones no está relacionado con la efectividad de las cepas. La infección empieza de 3-20 días después de la germinación dependiendo de las especies.

La cantidad de nitrógeno fijado por una planta nodulada es una función de: 1) el número de nódulos, 2) el volumen de tejido que contiene bacteroides, y 3) el tiempo durante el cual persiste el tejido.

Las células que contienen a los bacteroides de los nódulos de las

raíces de las leguminosas tienen una vida limitada que es menor que la vida activa en el nódulo.

Existen varios factores que afectan la formación de nódulos y la fijación de nitrógeno, y éstos son:

1) El oxígeno.

La formación de nódulos y la fijación de nitrógeno se reduce considerablemente en niveles de oxígeno debajo de 0.21 atm. Por otro lado, niveles muy altos de oxígeno inhiben la fijación de nitrógeno considerablemente (Lie 1974).

En el suelo el nivel de oxígeno es usualmente inferior al 20% , es obvio que la formación de nódulos y su funcionamiento son subóptimos (Lie 1974).

2) La humedad.

Se considera generalmente que la cantidad de nódulos formados y la longevidad de los nódulos está afectado adversamente si la humedad del suelo se desvía del nivel óptimo. El óptimo para la simbiosis en alfalfa y soya se encontró que es alrededor del 50-75% de la capacidad de almacenamiento de agua del suelo (Lie 1974).

Estudios recientes muestran que la actividad de fijar nitrógeno del nódulo está afectada por las condiciones de agua alrededor del nódulo. Una ligera capa de agua alrededor del nódulo suprimió la fijación de nitrógeno, probablemente debido a una reducción del abastecimiento de oxígeno del nódulo (Lie 1974).

Otros estudios muestran que una ligera reducción del contenido de agua del nódulo, lleva a una fuerte inhibición de la respiración y la fijación de nitrógeno. Con nódulos sueltos de soya, la recuperación es posible si el contenido del agua del nódulo no baja del 30%, pero una mayor desecación lleva a daños irreversibles. Resultados similares se

han obtenido con plantas enteras bajo condiciones de campo (Lie 1974).  
3) El nitrógeno y la relación H:C.

Varias observaciones han llegado a la hipótesis de que la proporción de carbohidrato-nitrógeno gobierna la formación de nódulos y fijación de nitrógeno (Wilson 1940, citado en Lie 1974).

Si hay una proporción baja de carbono-nitrógeno (C:N), se reducen tanto la formación de nódulos como la fijación de nitrógeno mientras que ambos procesos mejoran si la proporción C:N aumenta. Sin embargo, si la relación C:N es muy alta se inhibe de nuevo la fijación de nitrógeno (Wilson 1940, citado en Lie 1974).

Algunas veces pequeñas cantidades de nitrógeno combinado estimulan la nodulación y hay una interacción entre la intensidad de la luz, la temperatura y la cepa de Rhizobium (Dart 1974).

Las pequeñas concentraciones de nitrato inhiben la fase inicial rápida de la nodulación pero la velocidad subsiguiente de la formación de nódulos es similar a la de la planta sin nitrato (Dart 1974).

El nitrato afecta la nodulación independientemente de la edad de la planta, el tamaño y nodulaciones anteriores (Dart 1974).

El efecto principal de la luz en la fijación de nitrógeno simbiótica se debe a su efecto en la fotosíntesis y por lo tanto el abastecimiento de carbohidratos para el crecimiento y funcionamiento del nódulo. El crecimiento del nódulo es más dependiente de la luz para el abastecimiento de carbohidratos que el proceso de infección en sí (Lie 1974).

#### 4) La temperatura.

La fijación de nitrógeno es baja en plantas que crecen a bajas temperaturas, pero los nódulos que se forman a una temperatura favorable, retienen su actividad cuando son transferidos a bajas temperaturas (Lie 1974).

A temperaturas bajas en la raíz, se retiene más nitrógeno en los nódulos que a altas temperaturas, indicando que el transporte de nitrógeno del tallo se ve afectado (Lie 1974).

Altas temperaturas reducen la formación de nódulos y la fijación de nitrógeno, y la temperatura máxima para la simbiosis es menor que para la planta hospedera (Lie 1974).

Sólo en extremos calientes o fríos, se restringe la infección inicial o se inhibe completamente. Períodos más tardíos en el desarrollo de los nódulos, quizá involucrando el crecimiento del filamento de infección en la corteza, son más sensibles a la temperatura.

#### 5) Los metales.

En condiciones deficientes de molibdeno, se forman más nódulos pero son menos eficientes fijando nitrógeno y su estructura se parece a la de los nódulos ineficaces.

El cobre interviene en la nodulación actuando conjuntamente con los niveles de nitrato del suelo.

#### 6) Otros microorganismos del suelo.

Algunos hongos (Angle et al. 1981), actinomicetos y bacterias, pueden reducir la nodulación quizá inhibiendo Rhizobium o el crecimiento de la raíz alterando el metabolismo de la raíz para que resista la infección.

Una nodulación pobre de trébol en el campo ha sido atribuida a antagonismos microbianos en la rizosfera previniendo una colonización adecuada de la raíz por Rhizobium. Estos antagonismos se solucionaron principalmente aumentando el tamaño del inóculo o escogiendo una cepa de Rhizobium con una mayor competencia saprofitica.

No todas las interacciones de hongos con raíces de leguminosas inhiben la nodulación. Muchas leguminosas crecidas en suelo, tienen



ambos nódulos y una asociación endotrófica de micorrizas (Cluett & Boucher 1983). La presencia de la micorriza aumenta la formación del nódulo y la fijación de nitrógeno, particularmente en suelos con poco fosfato (Amanjunath & Patel 1979, Azcon de Aguilar et al. 1979, Burns et al 1981). La micorriza está probablemente afectando la nodulación, mejorando el status nutricional de la raíz, más que por un efecto directo del hongo sobre el proceso de infección.

La formación de nódulos y la fijación de nitrógeno son estimuladas por la presencia de micorriza, particularmente en suelos con poco fosfato. La micorriza coloniza virtualmente toda la raíz excepto los nódulos, lo que sugiere que el status hormonal del nódulo difiere del resto de la raíz.

EL MODELO.

El modelo que hemos desarrollado consta de tres ecuaciones: una que describe la dinámica de la planta, otra la dinámica de la bacteria y una última la dinámica del nódulo.

ECUACION QUE DESCRIBE LA DINAMICA DE LA PLANTA.

La ecuación consta de dos términos: uno que describe el crecimiento de la planta en ausencia de Rhizobium, y el otro, el beneficio demográfico que obtiene la población de plantas debido a la presencia de la población de bacterias.

Para el término que describe el crecimiento de la planta, se escogió un crecimiento logístico acorde con el hecho de que al aumentar la densidad de las plantas disminuye la fertilidad y aumenta la mortalidad de las mismas (Watkinson 1980 y Harper 1977).

El término de beneficio estaría expresado en términos de la densidad de la planta y del número de nódulos:

$$\dot{P} = P(b_0 - b_1 P - (d_0 + d_1 P)) + F(N, P) \quad (8)$$

donde P es el número de plantas,  $b_0$  y  $d_0$  son las tasas de natalidad y mortalidad denso-independientes,  $b_1$  y  $d_1$  son las tasas de natalidad y mortalidad denso-dependientes y  $f(N, P)$  es el beneficio obtenido de la planta por la simbiosis. En el equilibrio (en ausencia de Rhizobium):

$$\hat{p} = K = \frac{b_0 \cdot d_0}{b_1 + d_1}$$

donde K es una constante.

La función  $f(N,P)$  que describe el beneficio obtenido de la planta por la simbiosis, depende de un número muy grande de variables: temperatura, tipo de suelo (pH, humedad, sales, etc....), número y tipo de microorganismos, etc.... Tratar de expresar cada variable por separado, en el modelo, lo haría excesivamente complejo y muy difícil de analizar. Por esta razón hemos decidido representar todas estas variables agrupadas bajo una distribución y así obtener un análisis global del modelo.

El beneficio que obtiene la planta de la bacteria puede ser de tres tipos (I, II y III; fig.6). En ausencia de datos cuantitativos que relacionen el beneficio obtenido por la planta (en términos de tasas de natalidad y mortalidad) como función del número de nódulos activos que posea, se asumió que debe existir un rango en que el beneficio aumenta hasta alcanzar una plataforma de saturación del beneficio. Así, podemos decir que el tipo de beneficio que se encuentra es el II y que podemos representar como  $\alpha(i)$ :

$$\alpha(i) = \alpha (1 - e^{-bt}) \quad (10)$$

en donde  $\alpha$  representa el valor máximo del beneficio y b esta relacionado directamente con la velocidad con la que se alcanza este valor máximo.

Entonces, podemos decir que la función  $f(N,P)$  que describe el

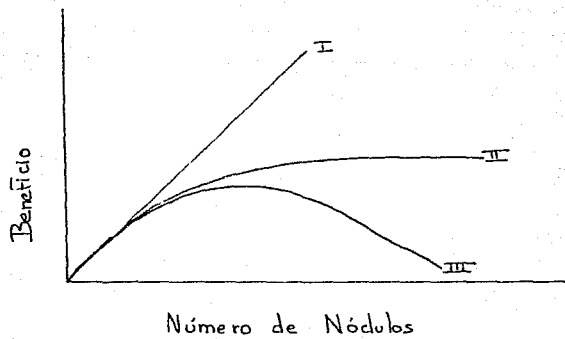


Figura 6. Grafica del beneficio que obtiene la planta de la bacteria. Este beneficio puede ser de tres tipos: I, II, III.

beneficio total que recibe la población de plantas, es la suma de los beneficios individuales. Si  $P(i)$  representa la proporción de plantas con  $i$  nódulos activos, entonces  $P \cdot P(i)$  es el número de las mismas y  $P \cdot P(i) \cdot \alpha(i)$  es el beneficio obtenido por las plantas de la categoría  $i$ . Por lo tanto, el beneficio total es la suma sobre todas las  $i$ 's:

$$F(N, P) = P \cdot \sum P(i) \cdot \alpha(i)$$

y reemplazando por el valor de  $\alpha(i)$ :

$$F(N, P) = P \cdot \sum P(i) \cdot \alpha (1 - e^{-bi})$$

$$F(N, P) = P \cdot \alpha \cdot \sum P(i) - P \cdot \alpha \cdot \sum P(i) \cdot e^{-bi}$$

$$F(N, P) = P \cdot \alpha (1 - \sum P(i) \cdot e^{-bi})$$

Si ponemos  $z = e^{-b}$ , entonces:

$$F(N, P) = P \cdot \alpha (1 - \sum P(i) z^i)$$

Por definición,  $\sum P(i) z^i$  es la función generadora de probabilidad (f.g.p.) (Bailey 1964). Conviene suponer que la distribución de nódulos es una binomial negativa; ya que este tipo de distribución nos permite, variando el parámetro  $k$  de la distribución de 0 a  $\infty$ , estudiar una distribución agregada (si  $k$  es pequeño) o azarosa (si  $k$  es grande). La f.g.p. de la distribución binomial negativa es:

$$FqP = (q - p \cdot z)^{-k}$$

en dónde:

$$q = 1 + p.$$

$p = \lambda/k$ , con  $\lambda$  = media de la distribución

por lo tanto:

$$(q - p \cdot z)^{-k} = \left(1 + \frac{\lambda}{k} - \frac{\lambda \cdot z}{k}\right)^{-k}$$

$$(q - p \cdot z)^{-k} = \left(1 + \frac{\lambda}{k} (1 - z)\right)^{-k}$$

si  $1 - z = Z$  y  $\lambda = N/P$

$$P \cdot \sum P(i) \cdot \alpha(i) = P \cdot \alpha \left(1 + \frac{N}{Pk} (1 - z)\right)^{-k}$$

$$P \cdot \sum P(i) \cdot \alpha(i) = P \cdot \alpha \left(1 + \frac{NZ}{Pk}\right)^{-k}$$

en dónde  $Z = 1 - e^{-b}$

entonces:

$$P = P(b_0 - d_0 - (b_1 + d_1)P + \alpha \left(1 - \left[1 + \frac{NZ}{Pk}\right]^{-k}\right)) \quad (11)$$

ECUACION QUE DESCRIBE LA DINAMICA DE LA BACTERIA.

Esta ecuación consta de tres funciones:

$$\dot{B} = f(B) + g(P) + h(P, N, B)$$

donde  $f(B)$  corresponde al crecimiento de la población de bacterias en ausencia de las plantas. Panchishkina et al. (1984), obtuvieron curvas de crecimiento de Rhizobium de tipo logístico, entonces:

$$f(B) = B(a - \sigma B)$$

$g(P)$  corresponde al beneficio demográfico que obtiene la población de bacterias de las plantas y puede ser de varios tipos, por ejemplo:

$$g_1(P) = bP$$

$$g_2(P) = bP + bP^2$$

$$g_3(P) = P \cdot \sum P(i) \beta(i)$$

en donde  $b$  es el beneficio producido por las plantas y es, en  $g_1(P)$ , un beneficio lineal. En  $g_2(P)$ , el beneficio es exponencial y en  $g_3(P)$  el beneficio depende de la simbiosis como para el caso de la planta.

Debido a la falta de información que hay acerca del tipo de beneficio que obtienen las bacterias, decidimos escoger  $g_1(P)$  para nuestro modelo, ya que, habiendo una falta de datos, entre más simple sea la ecuación, es más fácil su análisis.

Y por último,  $h(P, N, B)$  corresponde a la desaparición de bacterias del suelo por su entrada a la planta. Aquí también existen varias opciones:

$$h_1(P, N, B) = -a'PB$$

$$h_2(P, N, B) = -a'PB(1 - p \cdot N)$$

$$h_3(P, N, B) = -a'PB(1 - p'N - p''N')$$

sin embargo se decidió descartar ésta termino, ya que es muy pequeño comparado a los otros términos de la ecuación. Por ejemplo, el número de bacterias en el suelo que es alrededor de  $10^6/cm^3$ , mientras que el número de bacterias exitosas (esto es, que nodulan) debe de ser del orden de  $10^2$  o  $10^3/cm^3$ .

Así, tenemos finalmente la ecuación de las bacterias como:

$$\dot{B} = B(a - \sigma B + bP) \quad (12)$$

La velocidad a la que se reproducen las bacterias (horas) es mucho mayor que la velocidad a la que se reproducen las plantas (meses), por lo tanto, para fines prácticos, podemos considerar que las bacterias están siempre en equilibrio, y entonces:

$$\dot{B} = 0 \Rightarrow \hat{B} = \frac{(a + bP)}{\sigma} \quad (13)$$

ECUACION QUE DESCRIBE LA DINAMICA DEL NODULO.

Esta ecuación consta tambien de tres términos:



la velocidad de contagio por bacteria, por planta:

$$cPB$$

la velocidad de desaparición de nódulos efectivos que tiene un término debido a las mortalidades denso-dependiente y denso-independiente de las plantas:

$$-(d_0 P \frac{N}{P} + d_1 P^2 \frac{N}{P}) = -(d_0 N + d_1 N)$$

y finalmente la velocidad de la mortalidad de los nódulos:

$$-d_2 N$$

entonces la ecuación queda como:

$$\dot{N} = cPB - (d_0 N + d_1 PN) - d_2 N \quad (14)$$

podemos sustituir en la ecuación anterior el valor de B que habíamos calculado y obtenemos:

$$\dot{N} = cP \frac{(a-bP)}{j} - N(d_0 + d_1 P) - d_2 N \quad (15)$$

Resulta más pertinente hablar de nódulos por planta que de nódulos totales, además, en la literatura se encuentran también muchas veces los datos como nódulos por planta; por estas razones hemos hecho un

cambio de variable:

$$M = N/P$$

y:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{1}{P} \left( \frac{dN}{dt} - M \frac{dP}{dt} \right)$$

substituyendo, obtenemos:

$$\dot{M} = \frac{1}{P} \left\{ cP \left( \frac{a+bP}{\sigma} \right) - N(d_0+d_1P) - d_2N - MP(b_0-d_0 - [b_1+d_1]P + \alpha [1 - (1 + \frac{MZ}{K})^{-k}]) \right\}$$

$$\dot{M} = c \left( \frac{a+bP}{\sigma} \right) - M(d_0+d_1P) - Md_2 - M(b_0-d_0 - [b_1+d_1]P + \alpha [1 - (1 + \frac{MZ}{K})^{-k}])$$

$$\dot{M} = P \left( \frac{bc}{\sigma} - Md_1 + Md_1 + Mb_1 \right) - M(d_0+d_2+b_0-d_0 + \alpha [1 - (1 + \frac{MZ}{K})^{-k}]) + \frac{ac}{\sigma}$$

$$\dot{M} = P \left( \frac{bc}{\sigma} + Mb_1 \right) - M(d_2+b_0 + \alpha [1 - (1 + \frac{MZ}{K})^{-k}]) + \frac{ac}{\sigma} \quad (16)$$

## RESULTADOS Y DISCUSION

## DESARROLLO DEL MODELO.

Resumiendo, el sistema de ecuaciones que tenemos consta de dos ecuaciones: una para las plantas (P) y otra para los nódulos por planta (M), y que son:

$$\dot{P} = P(b_0 - d_0 - (b_1 + d_1)P + \alpha [1 - (1 + \frac{MZ}{PK})^{-k}])$$

$$\dot{M} = P(\frac{bc}{\sigma} + Mb_1) - M(d_2 + b_0 + \alpha [1 - (1 + \frac{MZ}{PK})^{-k}]) + \frac{ac}{\sigma}$$

El paso siguiente, es graficar en el espacio de fase, las isoclinas para las cuales  $P=0$  (que es la isoclina de las plantas) y  $M=0$  (que es la isoclina de los nódulos por planta).

Como para la ecuación de los nódulos por planta es más fácil despejar P, vamos a utilizar P como variable dependiente. Entonces, en el equilibrio de la ecuación  $M=0$  se obtiene:

$$\hat{P}_2 = \frac{M(d_2 + b_0 + \alpha [1 - (1 + \frac{MZ}{PK})^{-k}]) - \frac{ac}{\sigma}}{\frac{bc}{\sigma} + Mb_1}$$

y de la ecuación  $P=0$ :

$$\hat{P}_1 = \frac{b_0 - d_0 + \alpha [1 - (1 + \frac{MZ}{PK})^{-k}]}{b_1 + d_1}$$

Analizemos ahora las isoclinas para ver si existe un punto de equilibrio y si éste es estable.

Si  $M=0$ ,

$$\hat{P}_1 = \frac{b_0 - d_0}{b_1 + d_1}$$

y

$$\lim_{M \rightarrow \infty} P_1 = \frac{b_0 + \alpha - d_0}{b_1 + d_1}$$

Si  $M=0$ ,

$$\hat{P}_2 = -\frac{a}{b}$$

y

$$\lim_{M \rightarrow \infty} P_2 = \frac{d_2 + b_0 + \alpha}{b_1}$$

En las figuras 7A y 7B, están graficadas las isoclinas  $P_1$  y  $P_2$ , y podemos ver que si el  $\lim_{M \rightarrow \infty} P_1 > \lim_{M \rightarrow \infty} P_2$  no existe un punto de equilibrio.

$\lim_{M \rightarrow \infty} P_1 > \lim_{M \rightarrow \infty} P_2$  es equivalente a:

$$\frac{b_0 - d_0 + \alpha}{b_1 + d_1} > \frac{b_0 + d_2 + \alpha}{b_1}$$

$$b_0 b_1 - d_0 b_1 + \alpha b_1 > b_0 b_1 + b_0 d_1 + d_2 b_1 + d_2 d_1 + \alpha b_1 + \alpha d_1$$

$$-d_0 b_1 > b_0 d_1 + d_2 b_1 + d_2 d_1 + \alpha d_1$$

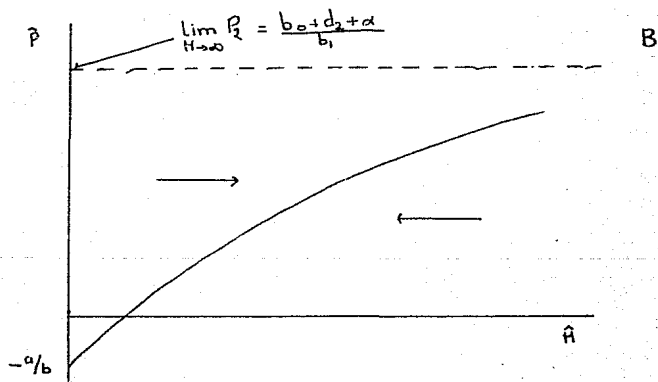
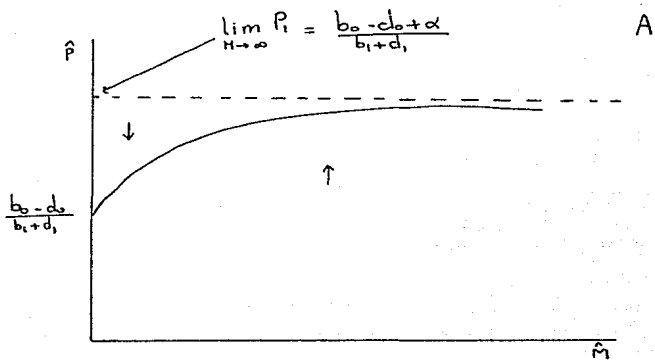


Figura 7. A, isocлина de las plantas que alcanza un valor máximo. B, isocлина de los nódulos por planta también alcanza un valor máximo.

Como  $\lim_{M \rightarrow \infty} P_1 < \lim_{M \rightarrow \infty} P_2$ , siempre hay un punto de equilibrio. En la figura 8 vemos que éste equilibrio es único (ya que es el único punto en el que se cruzan las dos isoclinas), y que es estable (ya que las flechas en la gráfica 8 muestran que la dirección hacia la cual se va a mover el sistema, es hacia el punto de equilibrio).

RESULTADOS ANALITICOS.

Resumiendo los resultados analíticos, se puede decir que:

- Existe un punto de equilibrio,
- Este punto es único,
- Y estable,
- El estudio de los límites de  $P_1$  y  $P_2$  cuando  $M$  muestran los valores máximos de  $P$  para las dos isoclinas, y que son:

$$\lim_{M \rightarrow \infty} P_1 = \frac{b_0 - d_0 + \alpha}{b_1 + d_1}$$

$$\lim_{M \rightarrow \infty} P_2 = \frac{b_0 + d_2 + \alpha}{b_1}$$

Para conocer los valores del punto de equilibrio, necesitamos conocer los valores de  $P$  y  $M$ . El valor de  $P$  está en función de  $M$  y para encontrar el valor de  $M$  necesitamos resolver la ecuación:

$$\frac{M \{ b_0 + d_2 + \alpha [ 1 - (1 + \frac{MZ}{K})^k ] \} - \frac{gc}{\sigma}}{\frac{bc}{\sigma} + Mb_1} - \frac{b_0 - d_0 + \alpha [ 1 - (1 + \frac{MZ}{K})^k ]}{b_1 + d_1} = 0$$

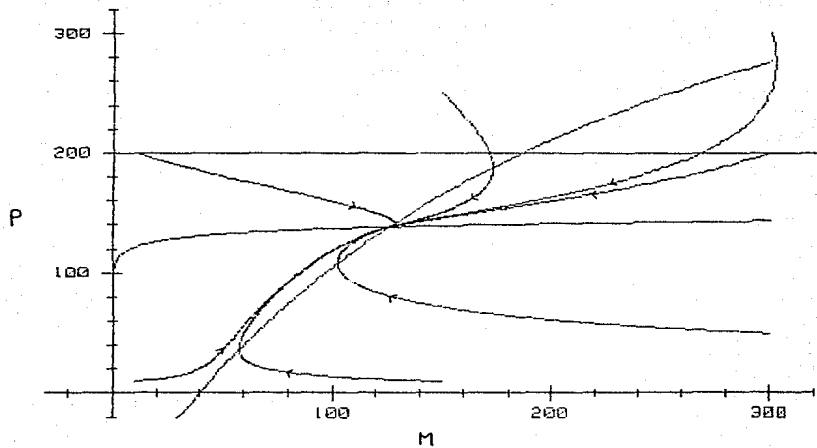


Figura 8. Espacio de fase con las isoclinas de P y M, y el techo. Las flechas muestran cómo se mueve el sistema.

pero ésta ecuación sólo puede resolverse numéricamente.

Para resolver numéricamente el valor de  $M$ , y poder entonces conocer el valor de  $P$  y por lo tanto el punto de equilibrio; es necesario estimar el valor de todos los parámetros.

Hay parámetros para los cuales, la literatura nos da información acerca de sus posibles valores, pero existen otros, para los cuales no hemos encontrado información alguna y se tiene entonces que hacer suposiciones educadas. En la tabla I, se presenta una lista de los parámetros con su significado, sus unidades y su valor probable.

Analizando la tabla I, se observa que para todos los parámetros de las plantas se pueden conocer sus valores numéricos, y en algunos casos ya se conocen.

Sin embargo, para los parámetros de las bacterias no hay datos y además es muy difícil obtenerlos dado la diversidad de las condiciones del suelo (como obtener la tasa de crecimiento de las bacterias en el campo si cada cm de tierra varía enormemente?).

Para los parámetros de los nódulos, uno de ellos,  $c$ , no se conoce y es muy difícil de obtener y el otro,  $d_2$ , se puede estimar.

#### RESULTADOS DE LAS SIMULACIONES.

Con los datos, obtenidos o estimados, de los parámetros (Tabla I), se han calculado los valores de  $M$  y  $P$  bajo condiciones distintas, haciendo simulaciones en la computadora.

Hemos escogido los parámetros que nos han parecido más relevantes ya que influyen de cierta manera sobre  $M$  y/o  $P$  y los hemos analizado.

Presentamos tres tipos de graficas:



TABLA I  
 Parametros de las ecuaciones y sus valores estimados

PLANTAS

	significado	Unidad	observaciones	valores
b	tasa de natalidad de las plantas per capita	1/t (t en semana)	se pueden obtener datos, es posible que ya haya	$10^{-1}$ Trifolium $10^{-4}$ Leucaena
d	tasa de mortalidad de las plantas per capita	1/t	se pueden obtener datos	"
b	disminucion denso-dependiente de la tasa de natalidad de las plantas per capita por unidad de area	$m^2/t$	se pueden obtener datos	$10^{-3}$ $10^{-3}$
d	aumento denso-dependiente de la tasa de la mortalidad de las plantas per capita	"	se pueden obtener datos	"
a	incremento maximo en la velocidad de crecimiento de la poblacion de plantas debido a la saturacion de los nodulos efectivos	1/t	se puede obtener	$10^{-1}$
Z	velocidad de saturacion, cuando es pequena requiere muchos nodulos efectivos, cuando es grande requiere pocos nodulos	adimensional	se puede obtener	0-1
K	indice inverso de agregacion de la distribucion de nodulos efectivos por planta. 1/K es un indice de agregacion	"	se puede obtener. Los datos en la literatura indican que se puede estimar de $K = \frac{\bar{x}^2}{(s^2 - \bar{x}^2)}$	0-2

TABLE I  
(continuacion)

BACTERIAS

a	tasa de crecimiento denso-independiente de las bacterias en ausencia de plantas	1/t	muy dificil de obtener	$\{ 1, 10^7$
b	aumento de la tasa de crecimiento por planta per capita debido a las plantas	$m^2/t$	se puede estimar muy di- ficilmente de la litera- tura	$\{ 1, 10^7$
$\delta$	tasa de mortalidad denso-dependiente per capita por unidad de volumen	$m^3/t$	"	$\{ .1? \}$ $\{ .01? \}$ $\{ .001? \}$

NODULOS

c	tasa de inoculacion efectiva por planta por bacteria	$m^3/t$	?	$\{ 10^{-8} ? \}$ $\{ 10^{-10} ? \}$
d	tasa de mortalidad por nodo	1/t	puede estimarse	$\{ 10\%, .1? \}$

- 1) Las gráficas paramétricas en las cuales podemos observar el efecto de un parámetro sobre P y M.
- 2) Las gráficas bidimensionales en las que graficamos las isoclinas de P y de M.
- 3) Las gráficas tridimensionales que nos permiten ver el efecto de dos parámetros a la vez.

En las gráficas paramétricas es más interesante graficar  $\hat{P}_{rel}$  en lugar de P ya que  $\hat{P}_{rel}$  es el incremento porcentual (con respecto a la capacidad de carga) de la densidad de plantas.

Y  $\hat{P}_{rel}$  es:

$$\hat{P}_{rel} = \frac{\hat{P} - \frac{b_0 - d_0}{b_1 - d_1}}{\frac{b_0 - d_0}{b_1 + d_1}}$$

o

$$\hat{P}_{rel} = \frac{(b_0 - d_0) + \alpha \left[ 1 - \left( 1 + \frac{MZ}{K} \right)^{-K} \right] - (b_0 - d_0)}{(b_1 + d_1)} \cdot \frac{(b_1 + d_1)}{(b_0 - d_0)}$$

finalmente:

$$\hat{P}_{rel} = \frac{\alpha \left[ 1 - \left( 1 + \frac{MZ}{K} \right)^{-K} \right]}{(b_0 - d_0)}$$

Los parámetros que resultaron más relevantes son:  $K$ ,  $Z$ ,  $\alpha$ ,  $c$ .  
Presentaremos los resultados de cada parámetro por separado.

#### 1. DISTRIBUCION DE LOS NODULOS EFECTIVOS POR PLANTA (K).

El parámetro  $K$  representa el índice inverso de agregación de la distribución de nódulos efectivos por plantas; es decir que para valores

pequeños de  $K$  ( $K=0.1$ ) la distribución es agregada, mientras que para valores grandes de  $K$  ( $K=0.9$ ), la distribución es aleatoria.

En la figura 9 vemos que éste es un factor muy importante para  $P$ . Según el tipo de distribución (aleatoria o contagiosa) el aumento de  $Prel$  varía: si el tipo de distribución que existe es contagioso o agregado, el aumento de  $Prel$  que se puede obtener es menor (alrededor del 30%), que si la distribución es aleatoria, en donde el aumento de  $Prel$  es considerable (hasta más del 100%).

En las figuras 10 y 11 vemos de nuevo el efecto de una distribución aleatoria sobre  $Prel$  vs. una distribución contagiosa. Otro resultado es que el número de nódulos por planta no varía mucho (hasta un 15%). Un resultado interesante al comparar las figuras 10 y 11, es que el valor máximo de  $Prel$  se alcanza muy rápido, sobre todo para valores grandes de  $Z$  pero esto lo discutiremos más tarde.

En las figuras 12, 13, 14 y 15 vemos una vez más que  $K$  afecta principalmente a  $Prel$ : para una  $K=1$ ,  $Prel$  varía mucho menos que para una  $K=9$ . La variación de  $P$  es en el incremento porcentual de  $P$  más no en la forma de la gráfica.

La distribución de nódulos efectivos por planta es un parámetro que se puede manejar en el campo. El hecho de, por ejemplo, revolver las semillas antes de sembrarlas, en una turba que contenga bacterias o utilizar algún otro método para homogeneizar el número de Rhizobium en el suelo, hace que la distribución sea más homogénea ( $K$  grande).

Los resultados del análisis de  $K$  muestran que el número de nódulos promedio no es un dato relevante sino más bien la variancia en la distribución de los nódulos por planta. Más adelante veremos que cada parámetro está a su vez afectado por  $K$  de manera muy significativa.

Robinson (1969) presenta unos datos que nos permiten obtener los valores de  $K$  para el sistema de Trifolium subterraneum y Rhizobium

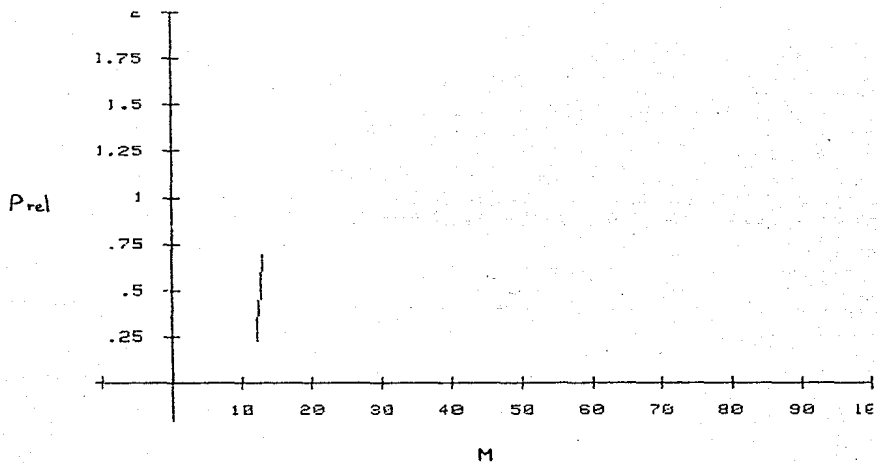


Figura 9. Gráfica paramétrica de  $K$ . Para ésta gráfica:  
 $\alpha = 1, Z = 1, \sigma = .0001, c = .00001, d_1 = 1$

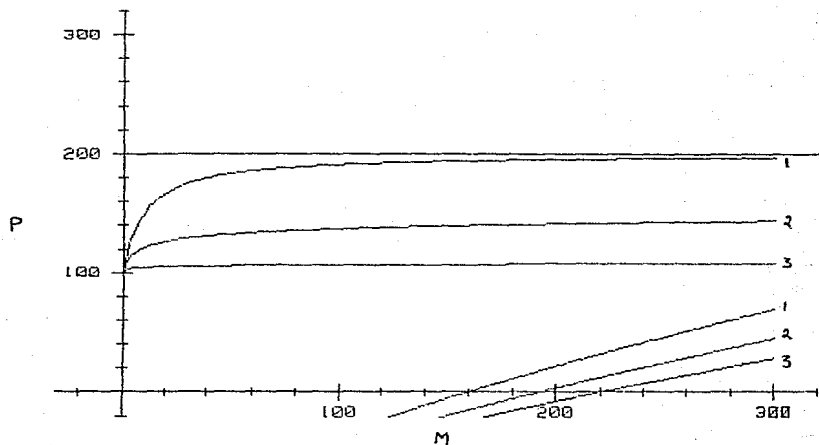
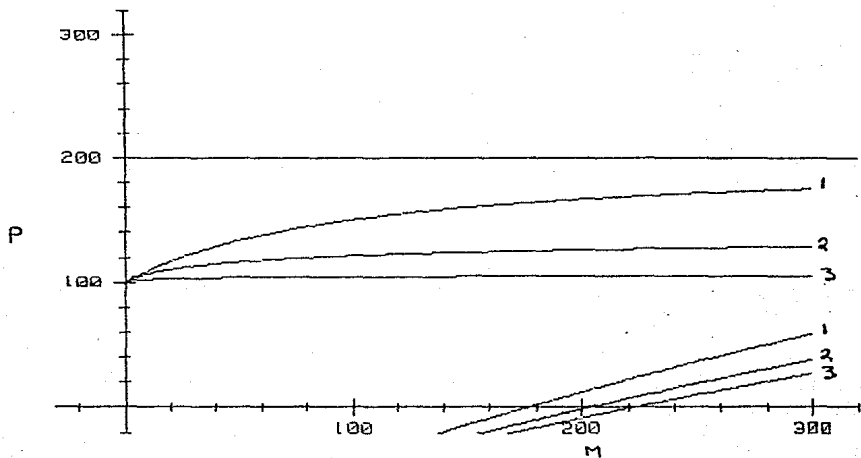


Figura 10. Gráficas del espacio de fase para las isoclinas de M y P con distintos valores de K. Aquí:  $\alpha=.1, z=.1, k=1, \sigma=.0001, c=.0005, d_1=.1$



	$\hat{M}$	$\hat{P}$
1.- $k=1$	672	187
2.- $k=-1$	625	133
3.- $k=.01$	595	106

Figura 11. Gráfica del espacio de fase para las isoclinas de  $M$  y  $P$  con distintos valores de  $k$ . Aquí:  $d_1=1$ ,  $d_2=.01$ ,  $K=1$ ,  $\delta=.0001$ ,  $c=.0005$ ,  $d_3=.1$

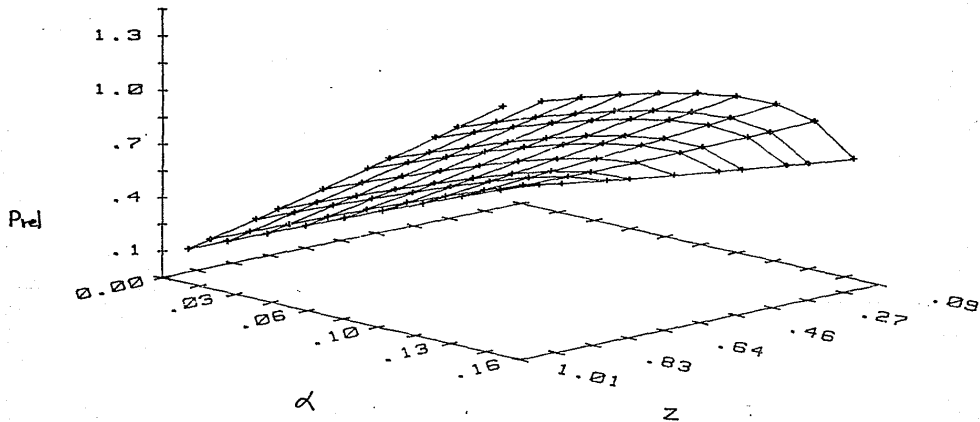


Figura 12. Gráfica tridimensional de Prel. vs.  $\alpha$  vs. Z.  
 $k=.9$



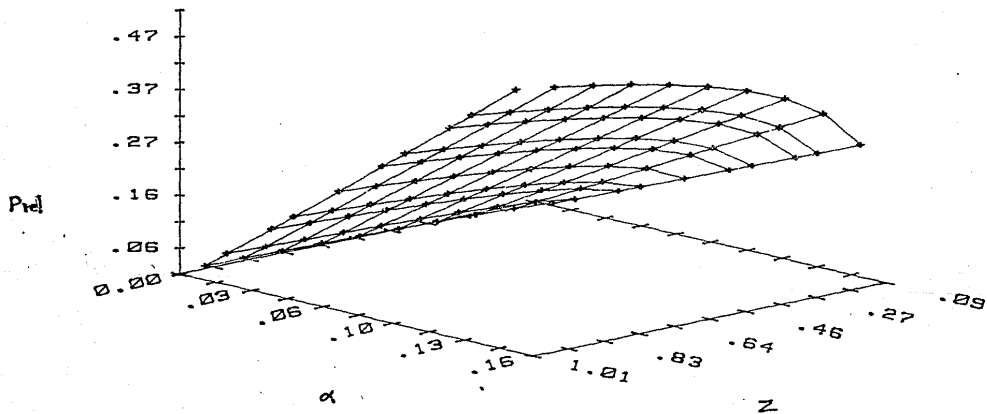


Figura 13. Gráfica tridimensional de Prel. vs.  $\alpha$  vs. Z.  
K=1

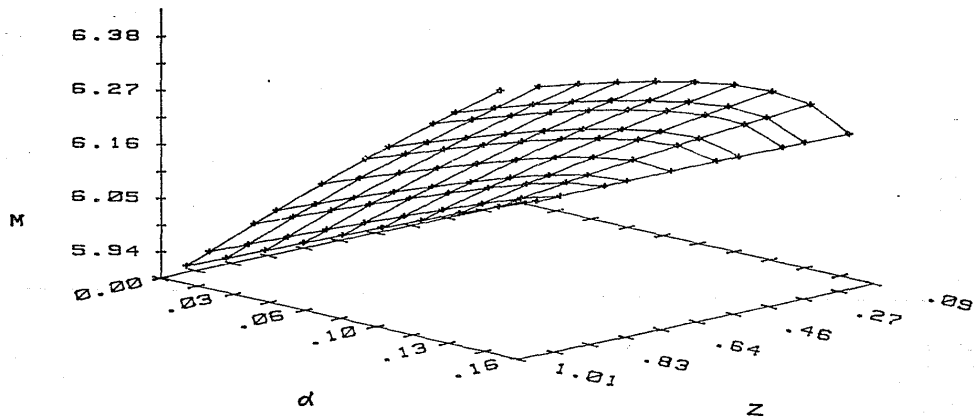


Figura 14. Gráfica tridimensional de M vs.  $\alpha$  vs. Z.  
K=1

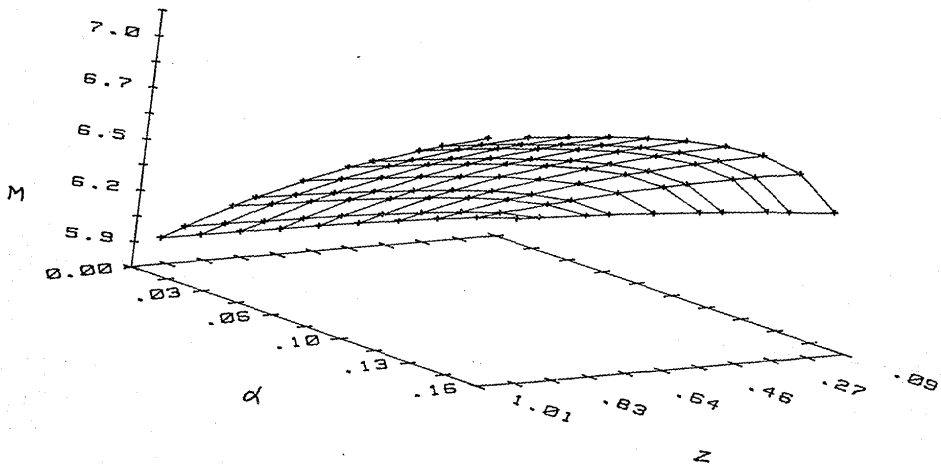


Figura 15. Gráfica tridimensional de M vs.  $\alpha$  vs. Z.  
 $k=9$

trifolii. En la figura 16 se observa que el tipo de distribución es contigiosa. En la tabla II, se observan los valores de la media, la varianza y el intervalo de confianza correspondientes a la figura 16.

## 2. LA VELOCIDAD DE SATURACION (Z).

Cuando la velocidad de saturación por planta es pequeña ( $Z=0$ ), se necesitan muchos nódulos efectivos para llegar a una saturación del efecto poblacional; cuando  $Z$  es grande ( $Z=1$ ), se requieren pocos nódulos.

En la figura 17, vemos que este parámetro afecta exclusivamente a  $P_{rel}$  y de manera muy significativa ya que puede llegar a aumentar hasta un 100%.

En la figura 18, vemos que  $Z$  no afecta el valor máximo de  $P$  sino la velocidad a la que alcanza este valor máximo.

Al hacer las gráficas tridimensionales de  $\alpha$ ,  $1/K$  y  $M$  o  $P$  variando  $Z$  (similares a las figuras 12-15), el único cambio que se observa aquí también es un aumento en el incremento porcentual de  $P$  si el valor de  $Z$  pasa de .09 a .8; por esta razón no juzgamos necesario presentar las gráficas.

Este parámetro es en principio manejable por el agrónomo ya que depende del tipo de cepa de Rhizobium y la especie de leguminosa. Así, escogiendo la pareja adecuada se puede controlar  $Z$ .

## 3. EL AUMENTO MÁXIMO EN LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO DE LA POBLACION DE PLANTAS ( $\alpha$ ).

En la figura paramétrica vemos que éste parámetro sólo afecta a  $P$  y de manera importante (figura 19).

# Distribucion de k

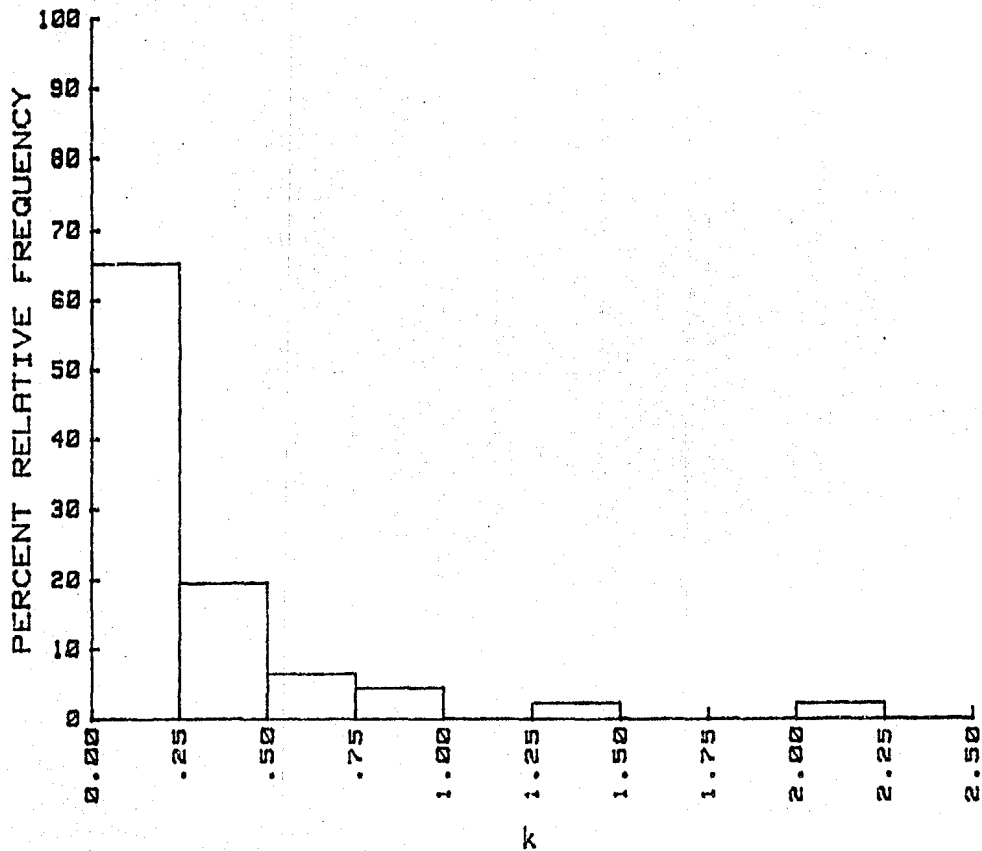


Figura 16. Distribución del número de nódulos por planta según los datos de Robinson (1969).

VARIABLE		# OF	# OF				
NAME	OBS.	MISS	SUM	MEAN	VARIANCE	STD.DEV.	
k	46	0	13.1415	.2857	.1643	.4053	

VARIABLE	COEFFICIENT	STD. ERROR	95 % CONFIDENCE INTERVAL	
NAME	OF VARIATION	OF MEAN	LOWER LIMIT	UPPER LIMIT
k	141.83358	.05976	.16529	.40608

TABLA II: Valores de la media, la varianza y el intervalo de confianza para los datos del artículo de Robinson (1969).

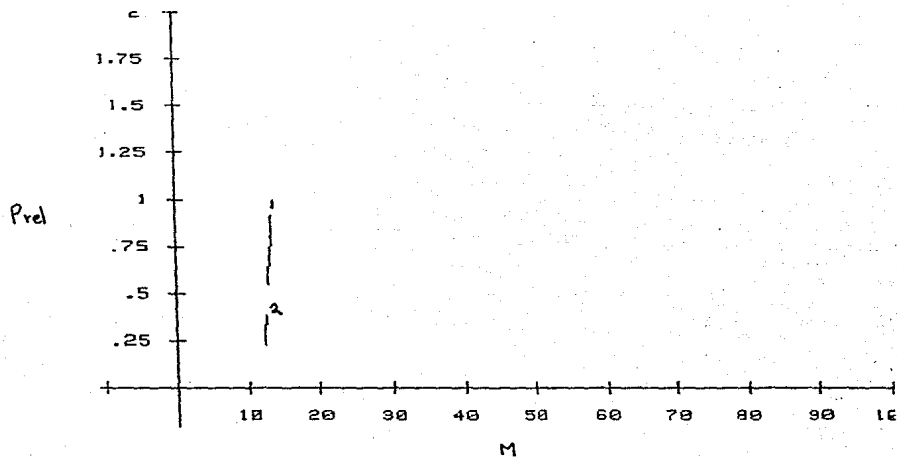
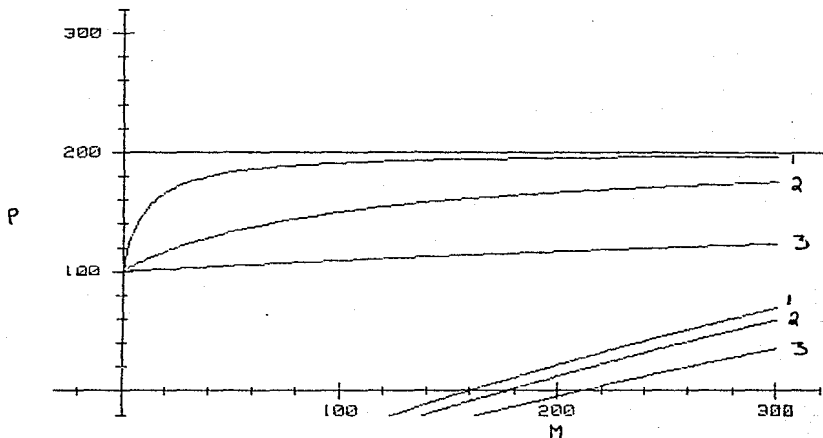


Figura 17. Gráfica paramétrica de Z. Para 1,  $k=.9$  y para 2,  $k=.1$ . Aquí:  $\alpha=.1$ ,  $k=.9$ ,  $\sigma=.0001$ ,  $C=.00001$ ,  $d_2=.1$



	$\hat{M}$	$\hat{P}$
1. - $z = .1$	681	198
2. - $z = .01$	672	187
3. - $z = .001$	630	138

Figura 18. Gráfica del espacio de fase para las isoclinas de  $M$  y  $P$  con distintos valores de  $z$ . Aquí:  $a = .1, k = 1, \sigma = .0001, c = .0005, d_2 = .1$



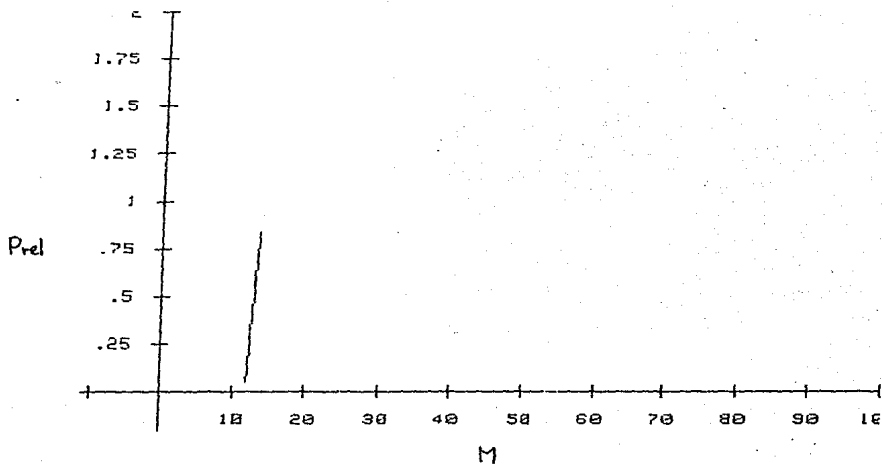


Figura 19. Gráfica paramétrica de  $\alpha$ . Aquí:  
 $Z=1, K=1.9, \sigma=0.0001, t=0.00001$   
 $d_2=1$

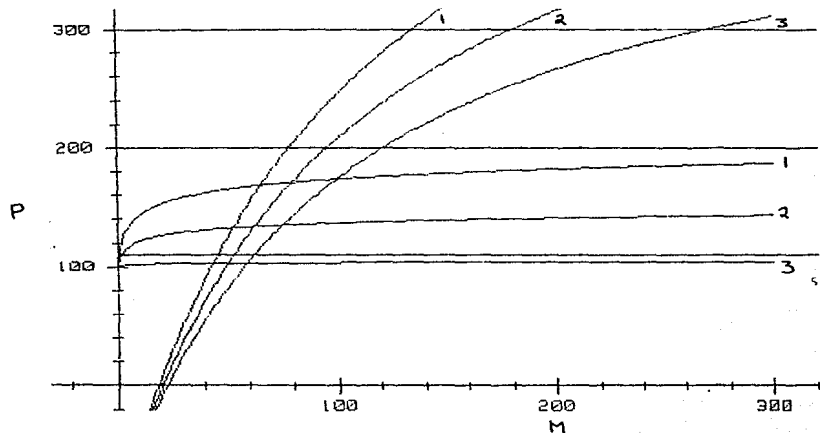
Este resultado lo confirmamos en las gráficas bidimensionales (figuras 20 y 21). Aquí podemos comparar el efecto del tipo de distribución sobre distintos valores de  $\alpha$  y vemos que el aumento de P es mucho mayor (casi 200%) si la distribución es aleatoria (K grande).

Este parámetro, depende de las características intrínsecas de la especie de la leguminosa, pero pueden mejorarse si se mejoran las condiciones climáticas ; del suelo, o por fitomejoramiento.

#### 4. LA VELOCIDAD DE INOCULACION EFECTIVA (c).

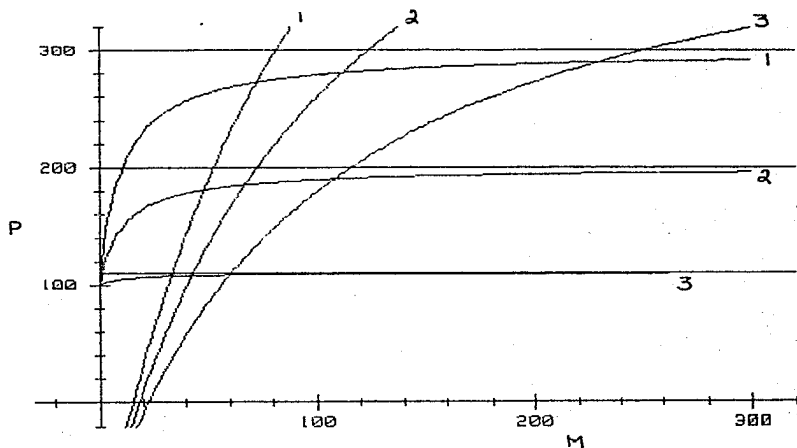
En la gráfica bidimensional (figura 22), vemos claramente que éste es un parámetro que sólo afecta al número de nódulos por planta (M). Y además éste efecto es considerable (por cada orden de magnitud que aumenta c, M aumenta 10 veces).

Sin embargo, en las gráficas paramétricas, vemos que al jugar con otros parámetros, también podemos afectar a P. El efecto más notable es el de alfa (figura 23), ya que cambiando este parámetro, se puede incrementar P hasta en un 100%. En la figura 23 podemos darnos cuenta que el valor de alfa puede ser un índice de qué tan obligado es este mutualismo, ya que para un valor pequeño (alfa=.01) de alfa el incremento de P es nulo y esto quiere decir que la simbiosis beneficia a la planta en muy poco; mientras que para un valor de alfa grande (alfa=.15) el incremento de P es considerable y se puede hablar de un mutualismo más estrecho. Con K (figura 24), el incremento no es tan grande (75%) aunque considerable. Este dato sugiere que si el agrónomo está ante una situación en la que la distribución sea contagiosa, no va a poder incrementar P, mientras que si la distribución es aleatoria el aumento que puede alcanzar P es importante. Z (figura 25), afecta la



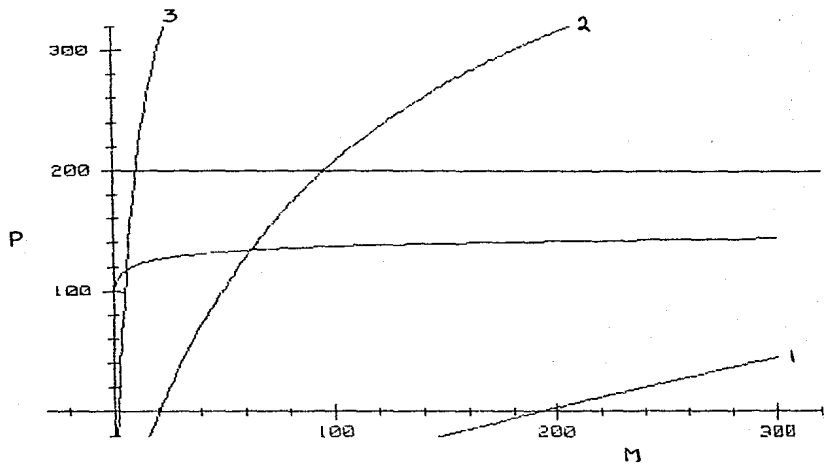
	$\hat{M}$	$\hat{P}$
1.- $\alpha = .2$	65	168
2.- $\alpha = .1$	62	133
3.- $\alpha = .01$	59	103

Figura 29. Gráfica del espacio de fase para las isoclinas de M y P con distintos valores de  $\alpha$ . Aquí:  $z = .1, k = .1, \delta = .001, c = .0005, d_2 = .1$



	$A$	$\beta$
1.- $\alpha = .2$	72	272
2.- $\alpha = .1$	67	185
3.- $\alpha = .01$	59	108

Figura 21. Gráfica del espacio de fase para las isoclinas de M y P con distintos valores de  $\alpha$ . Aquí:  $Z=1, k=9, D=.001, d_1=1, c=.0005$



	$\hat{M}$	$\hat{P}$
1.- $C = .0005$	639	147
2.- $C = .00005$	62	133
3.- $C = .000005$	6	117

Figura 22. Gráfica del espacio de fase para las isoclinas de M y P con distintos valores de c. Aquí:  $d = .1, z = .1, k = .1, \sigma = .0001, d_2 = .1$

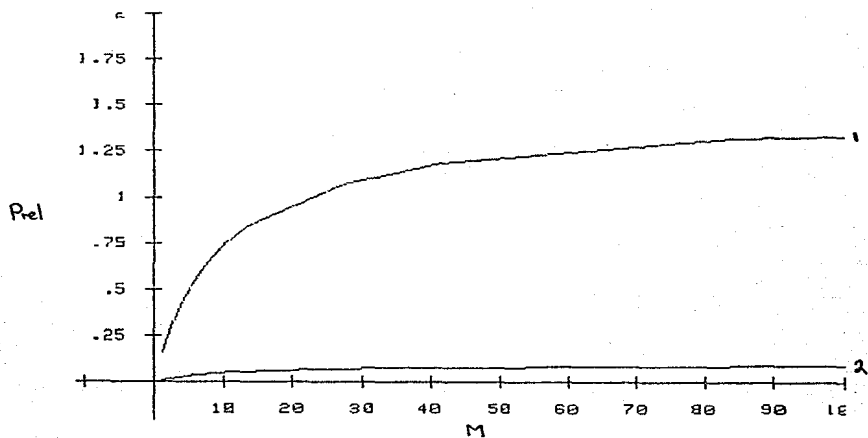


Figura 23. Gráfica paramétrica de  $c$  con dos valores distintos de  $\alpha$  (1.  $\alpha = .15$ , 2.  $\alpha = .01$ ). Aquí:  $Z = .1$ ,  $k = .9$ ,  $\delta = .0001$ ,  $d_2 = .1$

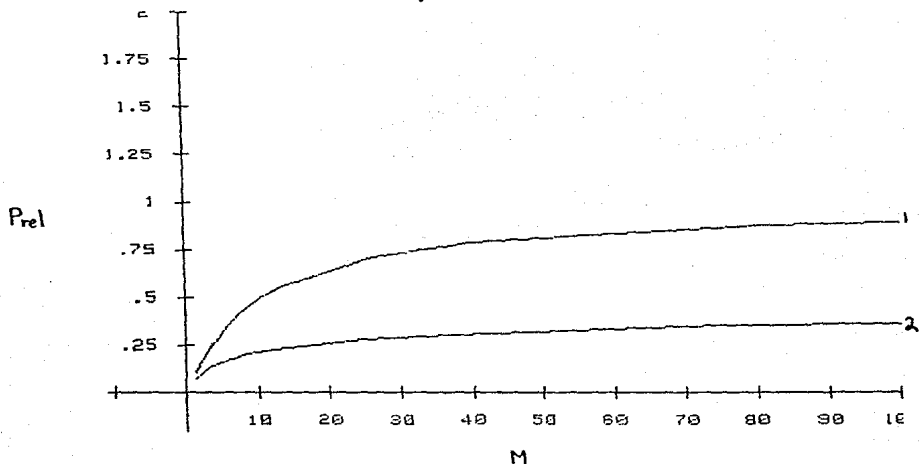


Figura 24. Gráfica paramétrica de  $c$  con dos valores distintos de  $K$  (1.  $K=9$ , 2.  $K=1$ ). Aquí:  $d_1=1$ ,  $d_2=1$ ,  $\bar{v}=0.001$ ,  $d_2=1$ .

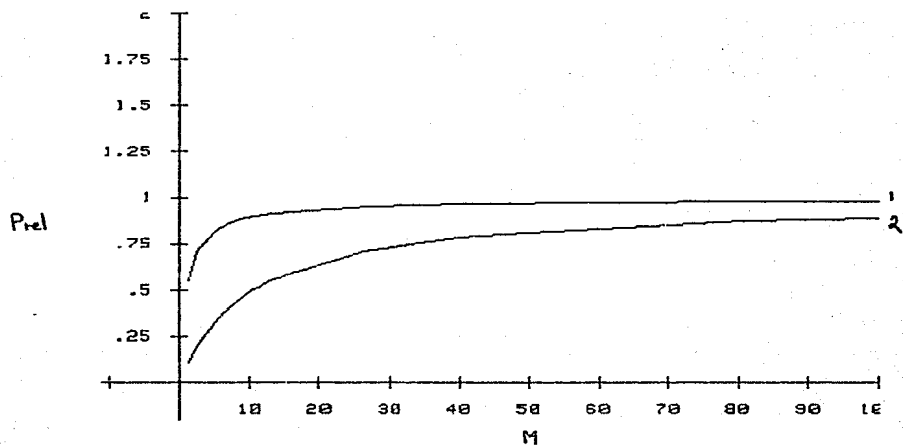


Figura 25. Gráfica paramétrica de  $c$  con dos valores distintos de  $Z$  ( $1.Z=.99$ ,  $2.Z=.1$ ). Aquí:  $k=.1$ ,  $k=.9$ ,  $\bar{J}=.0001$ ,  $d_2=.1$



velocidad con la que se llega al valor máximo de P.

Este parámetro puede manipularse en el campo al aumentar la probabilidad de que haya una inoculación y ésto pueda hacerse revolcando la semilla en las bacterias antes de sembrarlas o también usando un arado de madera y no uno de metal.

## CONCLUSIONES

Por lo general, los sistemas mutualistas son sistemas estables (no como los sistemas depredador-presa o de competencia), y éste modelo confirma lo anterior ya que se encontró en el estudio analítico del sistema que el modelo tiene un punto de equilibrio, que es único y que es estable.

Por otro lado, con las simulaciones se puede observar la importancia de ciertos parámetros.

Uno de ellos, quizá el más importante, es  $K$  (el índice inverso de la agregación de la distribución). El número de nódulos totales no es un parámetro relevante (comunicación personal); hemos encontrado que la distribución del número de nódulos efectivos es el parámetro importante. El tipo de distribución (aleatoria o contagiosa) es lo que determina si la planta va a obtener un beneficio de la simbiosis o no.

Este parámetro puede manejarse en el campo. Al aumentar la probabilidad de que las plantas tengan todas muchos nódulos, por ejemplo revolcando las semillas en una turba con bacterias antes de sembrarlas, puede obtenerse una distribución más aleatoria y así el beneficio de la simbiosis puede incrementarse.

En condiciones más naturales, cuando se utilizan leguminosas silvestres o semisilvestres (por ejemplo Leucaena), el problema de alterar las distribuciones es mayor, pero posiblemente pueda resolverse con prácticas agrícolas simples.

El parámetro  $\alpha$  (aumento máximo en la velocidad de crecimiento de la población de plantas) es también muy importante ya que si la planta tiene una  $\alpha$  baja, por más que el agrónomo trate de incrementar la

población no lo va a lograr, y no tendría caso introducir todo un sistema mutualista. Mientras que si se escoge una leguminosa con una grande (y aparte se trata de que las condiciones del suelo sean adecuadas), el asociar a ésta leguminosa, una bacteria del género Rhizobium podría incrementar bastante la población de plantas.

Otro parámetro que resulto muy interesante es  $c$  (la velocidad de inoculación efectiva) ya que éste parámetro afecta muy poco a la población de plantas mientras que el número de nódulos por planta varía enormemente. La influencia de éste parámetro depende mucho de otros parámetros como  $k$ ,  $\alpha$ ,  $\sigma$ , etc...

Este parámetro puede ser manipulado por el agrónomo al aumentar la probabilidad de que haya más contactos entre la raíz de planta y las bacterias, y esto puede hacerse también al revolver las semillas en una turba con bacterias antes de sembrar las semillas (como para  $k$ ), o mediante prácticas agronómicas como arar y homogeneizar el suelo.

El último punto que sería interesante recalcar es que hay algunos parámetros de los cuales no se tiene ninguna información; algunos de ellos por que poca gente los ha medido o reportado en la literatura (por ejemplo  $k$ ), y otros porque el sistema es muy complejo para poderlos calcular (por ejemplo los parámetros de la bacteria y  $c$ ).

REFERENCIAS

- Alexander, M. (1982). Ecology of Rhizobium. In: Alexander, M. (ed). Biological nitrogen fixation. Ecology, technology and physiology. Plenum Press.
- Amanjunath Bagyaras D.J. & Patel, R.B. (1979). Interaction between a vesicular-arbuscular mycorrhiza and their effects on soybean in the field. New Phytol. 82: 141-145.
- Anglo, J.S., Pugaschetti, B.K. & Wagner, G.H. (1981). Fungal effects on Rhizobium japonicum-soybean symbiosis. Agronomy Journal 73:301-306.
- Ayala, A.I. (1983). Aislamiento y caracterización de genes específicos que se expresan durante la simbiosis de Rhizobium phaseoli. Tesis para obtener el grado de Licenciado en Investigación Biológica Básica. Unidad Académica de los Ciclos Profesionales y de Posgrado del C.C.H., UNAM.
- Azcon-G. de Aguilar, C., Azcon R. & Barea J.M. (1979). Endomycorrhizal fungi and Rhizobium as biological fertilisers for Medicago sativa in normal cultivation. Nature 279: 325-327.
- Bailey, Norman T.J. (1964). The elements of stochastic processes with applications to the natural sciences. John Wiley & Sons Inc.
- Begon Michael & Mortimer Martin. (1981). Population ecology. A unified study of animals and plants. Blackwell Scientific Publications.
- Berlinger, J.E., Brewin, N., Johnston, A.N.B., Schulman, H.M., Hopwood, D.A. (1979). The Rhizobium-legume symbiosis. Proc. R. Soc. Lond. B 204:219-233.
- Bond, G. (1963). The root nodules of non leguminous angiosperms. In Symbiotic Associations, eds. P.S. Nutman, B. Mosse. Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- Boucher, Douglas H. (1985). The biology of mutualism. Ecology and evolution. Croom Helm (London & Sydney).
- Boucher, Douglas H., James Sam, Keeler Kathleen H. (1982). The ecology of mutualism. Annual Review of Ecology and Systematics, vol. 13:315-347.
- Brill, W.J. (1977). Biological nitrogen fixation. Sci. Amer. 236(3):68-81.
- Burns Jr. T.A., Bishop, P.E. & Daniel, D.W. (1981). Enhanced nodulation of leguminous plant roots by mixed cultures of Azotobacter vinelandii and Rhizobium. Plant and Soil 62: 399-412.
- Callahan, D., Del Tredici, P., Torrey, J.G. (1978). Isolation and cultivation in vitro of actinomycete causing root nodulation in Comptonia. Science 199:899-902.
- Cluett, Hellen C. & Boucher, Douglas H. (1983). Indirect mutualism in the legume-Rhizobium-mycorrhizal fungus interaction. Oecologia (Berlin) 59: 405-409.

- Dart, P.J. (1974). Development of root-nodule symbioses. The infection process. In: Quispel, A. (ed). The biology of nitrogen fixation. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. pp. 321-429.
- Dart, P.J. (1977). Infection and development of leguminous nodules. In: Hardy, R.W.F. & Silver, H.S. (eds). A treatise on dinitrogen fixation. New York, Wiley. p.367-472.
- Freire, Jardim J.R. (1982). Important limiting factors in soil for the Phizobium-legume symbiosis. In: Alexander M. (ed). Biological nitrogen fixation. Ecology, technology and physiology. Plenum Press.
- Gibson, A.H. (1981). Root temperature and symbiotic nitrogen fixation. Nature 191: 1080-1081.
- Graham, P.H. (1982). Plant factors affecting nodulation and symbiotic nitrogen fixation in legumes. In: Martin Alexander (ed). Biological nitrogen fixation. Ecology, technology and physiology. Plenum Press.
- Harper, John H. (1977). Population biology of plants. Academic Press.
- Howard, B.H. (1967). Intestinal micro-organisms of ruminants and other vertebrates. In: Symbiosis, ed. S.M.Henry, vol.2. New York: Academic Press.
- Hungate, R.E. (1966). The rumen and its microbes. New York Academic Press.
- Husser, R. (1925). Plant Soil 23:236-264.
- Huxley, C. (1978). The ant-plants Myrmecodia and Hydnophytum (Rubiaceae) and the relationships between their morphology, ant occupants, physiology and ecology. New Phytol. 80:231-268.
- Huxley, C. (1980). Symbiosis between ants and epiphytes. Biol. Rev. 55:321-340.
- Janzen, D.H. (1974). Epiphytic Myrmecophytes in Sarawak: mutualism through the feeding of plants by ants. Biotropica 6:237-259.
- Johnston, A.W.B., Beynon, J.L., Buchanan-Wollaston, A.V., Setchall, S.M., Hirsch, P.R. & Beringer, J.E. (1978). High frequency transfer of nodulating ability between strains and species of Rhizobium. Nature 276: 634-636.
- Lauton, R. & Hassel, M.P. (1991). Asymmetrical competition in insects. Nature 289:793-795.
- Lie, T.A. (1974). Environmental effects on nodulation and symbiotic nitrogen fixation. In: Quispel, A. (ed). The biology of nitrogen fixation. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. pp. 555-582.
- Lowendorf, Henry S. (1980). Factors affecting survival of Rhizobium in soil. Advances in Microbial Ecology 4:37.
- Maynard Smith J. (1974). Models in ecology. Cambridge University Press.

- Nutman, F.S. (1963). Factors influencing the balance of mutual advantage in legume symbiosis. In *Symbiotic associations*, eds. F.S. Nutman, B. Mosse. Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- Panchishkina, M.B., Keshvin, P.A. & Zuyagintsev, D.G. (1964). Quantitative description of the dynamics of nodule bacteria growth in soils. (in ruso). *Microbiologia* 52-3:503-511.
- Quispel, A., (1974). The biology of nitrogen fixation. New York: Elsevier pag. 770.
- Risch, S., McClure, M., Vandermeer, J., Waltz, S., (1977). Mutualism between three species of tropical Piper (Piperaceae) and their ant inhabitants. *Amer. Midl. Nat.* 99:433-444.
- Roberts, G.P. & Brill, W.J. (1991). Genetics and regulation of nitrogen fixation. *Ann. Rev. Microbiol.* 35: 207-235.
- Robertson, J.M. & Farnden, K.F. (1980). Ultrastructure and metabolism of the developing legume root nodule. In: Milfin, E.J. (ed). *Biochemistry of plants*. Academic Press, New York. 5: 65-113.
- Skinner, K.J. (1976). Nitrogen fixation. *Chemical and Engineering News*. October: 22-25.
- Soberon, J. & Martinez del Rio, C. (1991). The dynamics of a plant-pollinator interaction. *J. theor. Biol.* 31: 363-378.
- Torrey, J.G., Tjepkma, J.D. (1979). Symbiotic nitrogen fixation in actinomycete-nodulated plants. *Bot. Gaz.* 140 Supplement: 1-146.
- Trinick, M.J., (1973). Symbiosis between Rhizobium and the non-legume *Trema aspera*. *Nature* 244:459-460.
- Vance, C.P. & Johnson, L.E.E. (1981). *Plant Disease* vol. 65 no. 2: 118-124.
- Vandermeer, John H., Boucher, Douglas H., (1978). *J. Theor. Biol.* 74: 549-558.
- Verma, D.P.S. & Long, S. (1983). The molecular biology of Rhizobium-legume symbiosis. *International Review of Cytology*, Supplement 14: 211-245.
- Vincent, J.M. (1974). Root-nodule symbioses with Rhizobium. In: Quispel, A. (ed). *The biology of nitrogen fixation*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. pp. 265-241.
- Watkinson A.R., (1990). *J. Theor. Biol.* vol (90): 345-357.
- Wheelwright, N.T., Oriana, H. (1992). Seed dispersal by animals: contrasts with pollen dispersal, problems of terminology, and constraints on coevolution. *Amer. Nat.* 119:402-419.
- Wilson, P.W. (1940). The biochemistry of symbiotic nitrogen fixation. Madison Wisc. Univ. of Wisconsin Press.