

5

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



**ESTUDIO MICROBIOLOGICO DE LA RIZOSFERA**  
**DE ALGUNAS GRAMINEAS SILVESTRES**  
**DEL ESTADO DE VERACRUZ**

**T E S I S**

**Que Para Obtener el Título de**  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**  
**P r e s e n t a**

**D. DEL CARMEN ESPINOSA ANGELES**

**México, D. F.**

**1978**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

LAB. TESIS 1978  
ABO. 11. 149 136  
FECHA \_\_\_\_\_  
PROC. \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	PROF. ALFREDO ECHEGARAY ALEMAN
VOCAL	PROF. LILIA VIERNA GARCIA
SECRETARIO	PROF. SERGIO PALACIOS MAYORGA
1er. SUPLENTE	PROF. JORGE SOTO SORIA
2do. SUPLENTE	PROF. BEATRIZ LUNA MILLAN

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

INSTITUTO DE GEOLOGIA. U.N.A.M.

SUSTENTANTE D. DEL CARMEN ESPINOSA ANGELES

ASESOR DEL TEMA M. en C. SERGIO PALACIOS MAYORGA

SI EN LA LID EL DESTINO TE DERRIBA  
PUEDES EL ALMA LEVANTAR  
SI CUANDO TODOS DE TI DUDEN  
PUEDES EN TI MISMO ESPERAR  
SI TODO EN TU CAMINO ES CUESTA ARRIBA,  
SI TU SONRISA ES ANSIA INSATISFECHA  
SI HAY FAENA EXCESIVA Y VIL COSECHA,  
SI A TU CAUDAL SE CONTRAPONEN DIQUES,  
DATE UNA TREGUA PERO .....

¡¡ NO CLAUDIQUES !!

CON EL MAYOR RESPETO Y ADMIRACION  
HAGO PRESENTE MI SINCERO  
AGRADECIMIENTO:

Al M. en C. Sergio Palacios Mayorga  
Por su acertada dirección en la --  
presente Tesis, valiosos consejos  
y enseñanzas.

Al Sr. Rafael Hernández Magaña  
Técnico del Herbario del Insti-  
tuto de Biología, y al M.en C.  
David Flores Romano Investiga-  
dor del Depto. de Edafología -  
del Instituto de Geología, por  
su valiosa cooperación en la -  
identificación de los ejempla-  
res botánicos.

Al Instituto de Geología de la  
U.N.A.M. y en especial al personal  
del Departamento de Edafología, por  
las facilidades que me fueron otorg  
adas, la ayuda y estímulo brinda-  
do durante la realización del pre-  
sente trabajo.

A mi madre:

Catalina Angeles Villanueva.

Con inmenso cariño y respeto,  
por su abnegación, sacrificios  
y esfuerzos, que permitieron -  
la culminación de mi cometido.  
Gracias por tu amor, por guiarme  
hacia la superación y por darme  
la vida.

A mis Padrinos:

Sr. Fernando Torres Carranza

Sra. María Candé de Torres.

Con eterna gratitud por su valioso  
apoyo, estímulo y cariño brindado,  
en el camino recorrido.

A:

Josefina, Fernando, Martha y  
Jesús Torres Candé. Con el -  
cariño y estimación que les  
guardo.

Así mismo, quiero agradecer por este  
conducto, a todas aquellas personas,  
amigos y compañeros, que en una ú --  
otra forma contribuyeron al término  
de mis estudios y a la realización  
de este estudio.

## CONTENIDO

	Pag.
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	3
1.- Generalidades sobre la rizosfera	3
1.2. Métodos de estudio	4
1.2.1. Métodos microscópicos	4
1.2.2. Métodos de cultivo	5
2.- Interacciones planta - microorganismo	7
2.1. Influencia de la planta sobre - los microorganismos	8
2.1.1. Los exudados radiculares	8
2.1.2. Sitio de exudación	8
2.1.3. Naturaleza de los exudados	9
2.1.4. Factores que afectan la - exudación	12
2.2. Efecto de Rizosfera	15
2.2.1. Factores externos que in- fluyen sobre el efecto de rizosfera	18
2.2.2. Bacterias	19
2.2.3. Hongos	21
2.2.4. Actinomicetos	23
2.2.5. Amonificantes	24
2.2.6. Nitrificantes	24
2.2.7. Desnitrificantes	26
2.2.8. Microorganismos fijadores libres de nitrógeno	26
2.3. Efecto de los microorganismos - sobre las plantas	29
2.4. Interacciones entre los microor- ganismos rizosféricos	33

	Pag.
2.4.1. Asociaciones sinérgicas	33
2.4.2. Antagonismo en la rizosfera	33
3.- Rizosfera de las gramíneas	34
III. MATERIALES Y METODOS	39
1.- Localización de la zona de estudio	39
2.- Clima	39
3.- Antecedentes Geológicos	40
4.- Suelos	40
5.- Muestreos	41
5.1. Suelos	41
5.2. Plantas	42
6.- Determinaciones físicas y químicas	42
7.- Determinaciones microbiológicas	43
7.1. Análisis microbiológico de - la rizosfera y del suelo	43
7.2. Medios de cultivo	44
7.3. Periodos de incubación	45
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	46
1.- Características físicas y químicas de los suelos	46
2.- Población microbiana en los suelos	49
2.1. Microflora total	49
2.2. Microorganismos del ciclo - del nitrógeno	51
2.3. Microorganismos del ciclo - del carbono y del azufre	52
3.- Efecto de rizosfera	53
3.1. Microflora total	53
3.2. Microorganismos del ciclo - del nitrógeno	54
3.3. Microorganismos del ciclo - del carbono y azufre	56

	<b>Pag.</b>
V. RESUMEN	63
VI. BIBLIOGRAFIA	65

## I INTRODUCCION

Ha sido notable la importancia que, en los últimos años, se le ha dado al estudio de los microorganismos de la rizosfera, fundamentalmente en el sentido de dilucidar los efectos recíprocos en la asociación planta superior- microflora del suelo.

Las raíces proveen una localizada y continua fuente de nutrimentos para la microflora del suelo. Los microorganismos, por su actividad metabólica, provocan cambios en el suelo vecino a las raíces que pueden repercutir en el desarrollo de las plantas y, por tanto, en la producción agrícola.

A este respecto se deben mencionar los trabajos de Dobereiner (1968); Dobereiner y Day (1975); Town y White (1976); en relación al efecto estimulador de los microorganismos hacia la planta.

Dobereiner (1968), reporta en la asociación de la gramínea Paspalum notatum con Azotobacter paspali, valores equivalentes a la fijación de nitrógeno de 15 a 93 kg/ha/año.

Day y Dobereiner (1975), realizaron estudios fisiológicos de Spirillum lipoferum, reconociendo a esta bacteria como el mejor microorganismo responsable de la fijación de nitrógeno en las raíces de Digitaria decumbens.

Estudios realizados por Dobereiner (1976), en muestras de varios países, revelaron que Spirillum lipoferum Beijerinck, fijador de nitrógeno, es muy común en raíces de pasto de suelos tropicales.

Existe información acerca de la actividad nitrogenada de bacterias específicamente asociadas con Panicum virgatum y Sporobolus heterolepis, la cual se estimó entre 3.6 y 2.9 kg de N/ha<sup>1</sup>/año<sup>-1</sup>/, depende de los pastos y de su abastecimiento de energía, Tjepkema y Burris (1976).

La importancia de los microorganismos rizosféricos no se reduce a la fijación del nitrógeno, pues el establecimiento de bacterias solubilizadoras de fosfatos en la rizosfera es un tema científico bastante discutido, González y Barea (1976), encuentran que las fosfobacterias, por su capacidad para degradar los fosfatos insolubles in vitro, pueden constituir una fuente extra de fósforo para los vegetales. Estos autores discuten la posibilidad de que estas bacterias sean responsables de la solubilización de fosfatos, ó de la producción de fitohormonas a nivel de la rizosfera, que estimulan notablemente el crecimiento de las plantas.

Por lo anterior, resulta evidente que los microorganismos de la rizosfera de muchas especies vegetales, representan un potencial hacia el futuro, particularmente en relación con la economía del nitrógeno y fósforo en el suelo.

A pesar de los trabajos realizados, aún existe mucho por conocer sobre los microorganismos y la ecología de la rizosfera.

Debido a la inexistencia de trabajos publicados en el país sobre la microflora de la rizosfera de gramíneas forrajeras, y tomando en cuenta la importancia que tienen las praderas naturales en la ganadería del país, surgió el interés por contribuir con el presente trabajo, al conocimiento de la microbiología de la rizosfera de pastos silvestres; tales como: Sporobolus sp, Setaria geniculata, Panicum fasciculatum e Hyparrhenia rufa; mediante la cuantificación de la microflora total y de los principales grupos microbianos de actividad bioquímica específica del suelo, comparando la población microbiana de la rizosfera con la población no rizosférica, y su relación con algunas propiedades físicas y químicas del suelo.

## II REVISION BIBLIOGRAFICA

### 1.- Generalidades sobre la rizosfera

La fina capa de suelo que rodea a las raíces de las plantas, denominada rizosfera, es un habitat altamente favorable para la proliferación y metabolismo de numerosos grupos - microbianos, debido a que las raíces proveen una localizada y continúa fuente de nutrimentos para la microflora del suelo, en forma de tejidos vivos, exudados, y desechos de células -- muertas, constituyendo una continúa y extensa superficie para la colonización. Los grandes cambios creados en esta zona, tanto por las raíces como por la actividad metabólica de los microorganismos que la habitan, pueden ser benéficos ó dañinos para las plantas, Gray y Williams (1971).

Esto ha hecho surgir un gran interés por la biología del suelo y, particularmente, por el estudio de la relación planta-microorganismo. No obstante los trabajos realizados sobre la compleja rizosfera, aún existe mucho por conocer sobre los microorganismos y la ecología de la rizosfera, --- Rovira y Davey en Carson (1974).

Hiltner (1904), fué el primero en describir a la -- rizosfera como "La zona de suelo en la cual la microflora está influenciada por la raíz de la planta", es decir, es el -- suelo circundante a la raíz en el que los microorganismos son más abundantes, Carson (1974).

La rizosfera es un microhabitat de límites muy mal definidos, puesto que presenta un gradiente microbiano extendido desde la superficie de la raíz ó rizoplana, donde los -- microorganismos son más influenciados, hasta el suelo alejado donde los efectos son mínimos. La extensión de este gradiente depende principalmente de las especies de plantas.

Se pueden considerar, por tanto, dos partes dentro de la rizosfera:

- A.- La rizosfera propiamente dicha, correspondiente a la fina capa de suelo firmemente adherida a las raíces, y
- B.- La rizoplana ó superficie de la raíz. En este caso - la microflora es extraída por agitación vigorosa a partir de raíces previamente lavadas, Dommergues y - Mangenot (1970).

Sin embargo, hasta el momento, no es posible generalizar sobre la extensión de la rizosfera debido, como se mencionó anteriormente, a su dependencia con el estado metabólico de la planta y naturaleza del suelo, Parkinson en Burgues y Raw (1971). De tal manera que en esta zona no solo se encuentra aumento en la cantidad de microorganismos, sino también en su actividad fisiológica en comparación con lo que ocurre en el suelo alejado de la raíz.

#### 1.2.- Métodos de estudio.

Los estudios dedicados a la rizosfera se han visto dificultados por la falta de técnicas eficaces para el aislamiento y determinación de los componentes activos de la microflora rizosférica, Burgues y Raw (1971). La población de la rizosfera ha sido investigada intensamente por técnicas microscópicas, de cultivo y bioquímicas.

##### 1.2.1.- Métodos microscópicos.

Para el estudio microscópico de este medio ambiente, se han introducido varias modificaciones en el método del portaobjetos de Rossi y Cholodny, de considerable valor, ya que permiten el exámen de los tipos de microorganismos presentes y de su acción física con la superficie exterior del tejido radicular, Alexander (1961).

El exámen directo de raíces con el microscópio puede dar información sobre la distribución de microorganismos -

sobre la superficie de la raíz.

Mediante la técnica de Jones y Mollison (1948), es posible observar a las bacterias, hongos y actinomicetos, por tinción de raíces lavadas con una mezcla de anilina azul, fenol y ácido acético. Rovira (1956), usó este método encontrando que las puntas de la raíz casi siempre están libres de bacterias, las cuales aparecen únicamente hasta la zona de elongación, como pequeños grupos. En las porciones más viejas de la raíz, la superficie es densamente colonizada, teniéndose una capa profunda de células, Carson (1974).

La microscopía de luz también ha revelado que hay a menudo muchas capas de bacterias en la raíz. Parkinson et al (1963), encontró por microscopía directa de raíces de maíz --- (Zea mays), col (Brassica oleracea) y frijol (Phaseolus sp),-- que las hifas fúngicas fueron raramente observadas en la región de la punta de la raíz, siendo más abundantes hacia la unión con el tallo.

Por lo que respecta a la microscopía electrónica -- Jenny y Grossenbacher (1963) y Dart y Mercer (1964), la usaron para observar la presencia de una vaina mucilaginosa de varias micras de espesor, alrededor de las raíces de diversas plantas (avena y cebada entre otras). Esta capa de material mucilaginoso constituye solamente una fuente de sustratos hidrocarbonados para la microflora, además de modificar el medio ambiente rizosférico y de fijar las enzimas de origen vegetal ó microbiano, Carson (1974) y Dommergues y Mangenot -- (1970).

El microscopio electrónico de barrido (Stereoscan) puede contribuir al estudio de la orientación y distribución de microorganismos sobre la superficie de la raíz, Gray (1967), Marchant (1970), Dart (1971).

Gray (1967) y Dart (1971), han usado este micros --

cópio para demostrar la distribución de bacterias, incluyendo Rhizobium, sobre la superficie de las raíces y pelos radicales, Carson (1974).

Campbell y Rovira (1973) hicieron un estudio con el propósito de desarrollar métodos por los cuales las raíces, - junto con su microflora y suelo puedan ser examinadas por el SEM (Scanning-electron-microscope). De esta manera fué posible observar la forma, tamaño y distribución de granos, minerales y agregados en relación a la superficie de la raíz y la microflora; resultando visibles los microorganismos sobre la verdadera superficie de la raíz de ambas muestras usadas, --- trébol y pasto, unicamente donde no fué cubierta por material mucilaginoso. Este material probablemente corresponde al mucigel observado por Jenny y Grossenbacher (1963), y Greaves y - Darbyshire (1972).

### 1.2.2. Métodos de cultivo.

Por lo que respecta a las investigaciones por cultivo, el método tradicional es la siembra en placa de una dilución de suelo, Carson (1974), utilizado tanto para estudios cualitativos como cuantitativos de la rizosfera, Starkey --- (1929), Timonin (1940), Timonin y Thexton (1951), Webley --- Eastwood y Gimingham (1952), Katznelson (1960), Papaviza y -- Davey (1961), en Burgues y Raw (1971).

En este método, la planta es cuidadosamente removida del campo ó maceta de invernadero desalojando, por agitación moderada, el suelo superfluo. Las raíces y el suelo adherido a ellas se suspenden en un volúmen conocido de diluyente. Se prepara una serie de diluciones, de las cuales se toman alícuotas para la cuenta en placa. Además se hace una comparación midiendo el efecto rizosférico por la relación R:S - (rizosfera-suelo), relación de la densidad de microorganismos

dentro de la rizosfera (R), con la densidad de microorganismos fuera de la rizosfera ó suelo testigo (S). El valor de la relación R:S es sensible a las condiciones de manipulación, - Dommergues y Mangenot (1970).

Esta técnica se admite como adecuada para el estudio de bacterias en la rizosfera, pero es selectiva y solo -- permite el aislamiento de una pequeña proporción de las bacterias que se encuentran en una población, Starkey (1958) en -- Burgues y Raw (1971).

El empleo de la siembra por dilución, para comparar las poblaciones fungosas del suelo de rizosfera y no rizosfera, puede conducir a faltas de precisión. A este respecto --- Agnihotrudu (1955) y Parkinson (1957), consideran que la rizosfera es una zona en la cual se encuentran presentes los -- hongos principalmente en forma de micelio, mientras que en el suelo alejado lo están generalmente en forma de esporas, - Burgues y Raw (1971). Para evitar lo anterior, se ha utilizado el método de Harley y Waid (1955), que consiste en colocar fragmentos bien lavados de raíces en un medio de gelosa y, -- posteriormente, se hacen los aislamientos a partir de las extremidades hifales que se desarrollan. Este método es el más útil dentro del estudio cualitativo de hongos íntimamente --- asociados a raíces, Parkinson (1965) en Burgues y Raw (1971).

## 2.- Interacciones planta-microorganismo.

La microflora es afectada en muchos aspectos por el crecimiento de la planta. La actividad y las reacciones microbianas, importantes para la fertilidad, pueden ser más rápidas en el medio ambiente de la raíz que en el suelo no rizosférico, Alexander (1961). Dentro de estas interacciones se pueden mencionar las siguientes:

- 1.- Influencia de la planta sobre los microorganismos.

- 2.- Influencia de los microorganismos sobre las plantas.
- 3.- Interacciones entre los microorganismos.

### 2.1. Influencia de la planta sobre los microorganismos.

La más importante contribución de la planta a la -- microflora es la provisión de productos de excreción, es decir, por exudación de sustancias orgánicas e inorgánicas que, normalmente, refuerzan la actividad microbiana. En algunos -- casos se puede presentar la exudación de sustancias inhibitorias ó tóxicas.

#### 2.1.1. Los exudados radiculares.

Desde Knudson (1920), se han realizado muchas demostraciones de la emisión de exudados por parte de las raíces, -- pero la mayoría de los trabajos se han realizado a partir de (1950). Se han identificado en estos exudados: glúcidos, amino ácidos, vitaminas, ácidos orgánicos, nucleótidos, flavonas y enzimas; junto con sustancias del tipo de las saponinas, glucósidos y ácido cianhídrico, que tienen efectos tóxicos sobre los microorganismos, en Burgues y Raw (1971).

#### 2.1.2. Sitio de exudación.

Es importante mencionar el sitio de exudación de -- estos compuestos (productos de excreción). Respecto a este -- punto, se ha demostrado que los efectos estimulantes máximos de las raíces de las plantas sobre los microorganismos del -- suelo, son los que tienen lugar sobre la superficie de la raíz, Starkey (1931); Katznelson, Lochhead y Timonin (1948); Webley Eastwood y Gimingham (1952) en Burgues y Raw (1971).

También, Pearson y Parkinson (1961), demostraron -- que el ápice, ó sea la zona subterminal de la raíz, es la -- principal fuente de exudados. Fresnel (1960), indicó que la -

exudación de ciertos aminoácidos tiene lugar en el ápice de la raíz, mientras que en la zona pilosa de la raíz se liberan otros aminoácidos, Burgues y Raw (1971).

Head (1964), demostró que los pelos radiculares también están involucrados en la exudación.

Rovira y Davey afirman que cuando las plantas no tienen pelos se debe a que las raíces son micorrizales; el hongo involucrado y el tipo de micorriza formada deben influenciar los exudados de la raíz, en Carson (1974).

### 2.1.3. Naturaleza de los exudados.

Por lo que respecta a los exudados, la composición es variada y, en vista de que la planta crea un habitat subterráneo único para los microorganismos, no es posible dar reglas concernientes a la composición cualitativa de los exudados para cada especie vegetal. Los exudados de las diferentes especies de plantas, puede proveer un amplio rango de combinación de sustancias, pero el estudio de tales exudados se encuentra aún en sus primeras etapas, Brown en Walker (1975).

Los exudados en pequeña cantidad consisten de una variedad de compuestos en los que se incluyen; azúcares, aminoácidos, péptidos, enzimas, vitaminas, ácidos orgánicos, nucleótidos y, en cantidades de trazas, varias sustancias con actividad metabólica específica, tales como factores de atracción de quistes de nemátodos y de zoosporas fúngicas, Brown en Walker (1975).

La exudación de compuestos orgánicos por parte de las raíces, constituye un factor de primordial importancia de estimulación del crecimiento microbiano en la rizosfera. Sin embargo, se sabe poco sobre los procesos fisiológicos que intervienen en la liberación de sustancias orgánicas por parte

de las raíces de las plantas.

Se han identificado 10 azúcares, de los cuales la glucosa y fructosa son relativamente los más abundantes; se señalan, entre otros, la presencia bastante frecuente de los siguientes azúcares: arabinosa, maltosa, xilosa, rafinosa y -- sacarosa.

Los productos de exudación de las raíces encierran muchos aminoácidos: leucina, valina, isoleucina, glutamina, - etc., Schofer et al (1964). Comparando los exudados de 2 plantas (guisante y avena) encontraron que en la primera fueron, esencialmente, los siguientes aminoácidos: homoserina, treonina, alfa alanina, glutamina, asparagina y serina; mientras -- que los exudados de la segunda, en su mayor parte estaban -- compuestos por: serina, lisina y glicina. Los ácidos orgánicos pueden ser exudados en cantidades relativamente importantes y juegan un papel muy importante dentro de la rizosfera. Dentro de estos se han encontrado: fórmico, acético, propiónico, valérico, glicólico, oxálico, succínico, fumárico, málico, Carson (1974).

El suelo rizosférico es generalmente mucho más rico en enzimas que el suelo no rizosférico. Estas enzimas, de -- origen vegetal, provienen del sitio de exudación ó de las células de exfoliación de las raíces. Por ejemplo: la fosfatasa (exudada por el maíz), sacarasa, amilasa y proteasa (exudadas por el trigo, maíz y guisante), Dommergues y Mangenot (1970).

Además las plantas pueden exudar por las raíces cantidades importantes de agua, cuando la atmósfera está saturada (humedad relativa de 100%), Schippers et al (1967).

Otras sustancias exudadas son productos derivados de los ácidos nucleicos tales como: guanina, adenina, etc.

Existen exudados que inhiben la microflora del suelo. Las raíces dentro de su fase de crecimiento más activa, -

es decir, en el momento de la germinación, producen cantidades importantes de sustancias tóxicas que limitan la proliferación de microorganismos heterotróficos en su superficie. La producción de estas sustancias disminuye después, permitiendo el desarrollo de la colonización de la zona rizosférica por los microorganismos del suelo. Esta fuerte producción de sustancias tóxicas dentro de las raíces más jóvenes explica la ausencia de micorriza sobre estas raíces, Samtsevich (1965).

De las sustancias tóxicas aisladas y determinadas se puede mencionar, en particular, el glucósido de las extremidades de la raíz de avena que inhibe ciertos hongos, Schönluck (1958), así como sustancias fenólicas diversas: ácido isoclorogénico, ácido clorogénico, ácido gálico, Rice (1967) en Dommergues y Mangenot (1970).

Los exudados inhibitorios juegan un doble papel:

- 1.- Protección de las plantas contra la infección de los microorganismos patógenos (hongos, bacterias, virus), y
- 2.- Competencia entre vegetales.

Las variaciones de concentración en las sustancias biológicamente activas de los exudados radiculares, pueden explicar la sucesión de fenómenos de estimulación ó depresión que se observa frecuentemente en ciertos microorganismos semejantes a Azotobacter, ó en las bacterias nitrosas, Molina y Rovira (1964). Rovira y Davey (1956), consideran que dos puntos se deben examinar al considerar la naturaleza de los compuestos exudados por la raíz:

- 1.- Bajo condiciones naturales, no estériles, muchos de estos compuestos simples no se difunden muy lejos antes de ser absorbidos ó modificados por la microflora.
- 2.- Las técnicas usadas no detectan los materiales volátiles y los insolubles en agua que, bajo condicio--

nes naturales, pueden exceder a los compuestos solubles.

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

#### 2.1.4. Factores que afectan la exudación.

Para Vancura (1964, 1965), la composición de los -- exudados varía de la siguiente manera:

1.- En función de la especie ó variedad de planta.

Cada especie induce a un efecto rizosférico específico. Smith (1969), demostró entre especies, la diferencia en la naturaleza de sus exudados y, también, que los ácidos orgánicos, acético y oxalico, constituyen una mayor fracción de -- los mismos, en Carson (1974).

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

La cantidad, rango y balance de compuestos exudados por la raíz difieren en las diferentes especies de plantas de la misma edad y dentro de una misma especie, demostrando la -- marcada influencia del desarrollo de la planta en el incremento del número total de bacterias.

A este respecto se debe mencionar que:

Durante el estado de germinación, la planta comienza a ejercer su influencia sobre la microflora por el aporte

de sustancias que constituyen la envoltura del grano, Dommergues y Mangenot (1970).

Rovira (1956), encontró más azúcares y aminoácidos exudados por frijol y avena, durante los primeros días de crecimiento que durante los posteriores.

En estados ulteriores de desarrollo, Vancura y Hovadick (1965), encontraron que las densidades máximas de desarrollo de la rizosfera corresponden a la floración ó al estado que la precede. Estas reglas están fuera de ser generales, puesto que, para otros autores, la máxima estimulación puede ser en otros estados evolutivos del vegetal, Riviere (1959) - en Dommergues y Mangenot (1970).

Smith (1970), encontró comparando la composición de los exudados procedentes de raíces de plantas de arce de azúcar (Acer saccharum) de tres semanas, que estos exudaron muchos azúcares, pero considerablemente menos ácidos orgánicos que los árboles maduros, Carson (1974).

Senectud de la planta. Al envejecer las raíces el efecto de rizosfera se esfuma, y es progresivamente disimulado por la proliferación de los microorganismos que intervienen en la descomposición de los tejidos vegetales muertos. En este estado la micropoblación es modificada nuevamente, es decir, se añaden a los exudados todas las sustancias que provienen de la exfoliación de los tejidos radiculares, tales como células muertas de la epidermis y pelos absorbentes. Estos sustratos favorecen el desarrollo de una microflora especializada, designada por Krasil'nikov (1958), bajo el nombre de "las raíces en descomposición", y comprende microorganismos celulolíticos, pectinolíticos y proteolíticos, Dommergues y Mangenot (1970).

Nutrición de la planta. Obviamente, es de considerable interés la influencia de la nutrición de la planta so-

bre la exudación de compuestos orgánicos por raíces. Este aspecto no ha sido estudiado con gran detalle.

Bowen (1969), con Pino Monterrey, demuestra que la nutrición afecta la exudación de aminoácidos, en Carson (1974). Esta fué la primera demostración concluyente de que la nutrición afecta la exudación de compuestos orgánicos por raíces, y es importante al predecir el significado de los exudados de raíces en las relaciones planta-planta y planta-microorganismo en el suelo.

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

### 3.- Condiciones ambientales.

La exudación de sustancias varía según las condiciones ambientales. Katznelson, Rouatt y Payne (1954, 1955) pusieron de manifiesto que la marchitez temporal de las plantas provoca un aumento en la emisión de aminoácidos por sus raíces, Burgues y Raw (1971).

La intensidad de luz bajo la cual las plantas crecen, afecta a la cantidad y balance de compuestos exudados dentro de la solución nutritiva.

Rovira (1959), demostró que, en condiciones de luz y temperatura elevadas, se producía un aumento en la exudación que era mayor durante las primeras 5 semanas, Burgues y Raw (1971). En experimentos con trébol creciendo a pleno sol, se exudó más serina, ácido glutámico y alfa alanina que en las plantas que crecieron bajo 60% de sombra. En forma similar, con tomates, los niveles de ácido aspártico, glutámico - fenil alanina y leucina en los exudados fueron reducidos por

la sombra.

Los microorganismos son también afectados por la respiración de las raíces, en donde la evolución del  $\text{CO}_2$  altera el pH y, consecuentemente, la capacidad aprovechable de ciertos nutrimentos inorgánicos. La penetración de raíces mejora la estructura del suelo, y el mejoramiento estructural favorece las oxidaciones microbianas, Alexander (1961). La atmósfera de la rizosfera está caracterizada por un fuerte contenido en  $\text{CO}_2$  que proviene tanto de la planta como de la microflora. Lundegardh (1927), admite que el  $\text{CO}_2$  liberado proviene, en dos terceras partes, de la planta y en una tercera parte de los microorganismos.

En tanto que en la respiración de las raíces el  $\text{O}_2$  es consumido y el  $\text{CO}_2$  liberado, la utilización de sustratos carbonáceos por la gran población microbiana también conducen a la liberación de  $\text{CO}_2$  y utilización de  $\text{O}_2$ . De aquí que la respiración de ambos, micro y macroorganismos, resulta en una mayor producción de  $\text{CO}_2$  en el suelo de rizosfera que en el no rizosférico. Es probable que la difusión de  $\text{O}_2$ , ó la posible absorción de  $\text{CO}_2$  por las raíces, no sean lo suficientemente intensos como para enmascarar el enriquecimiento en  $\text{CO}_2$  de la rizosfera y, por consiguiente, la rizosfera casi siempre estará caracterizada por un deficit en  $\text{O}_2$ , que favorece a la desnitrificación y a otros procesos anaerobicos en esta zona.

Katznelson y Rouatt (1957), encontraron que el consumo de oxígeno y la evolución de  $\text{CO}_2$  son más elevados en el suelo de rizosfera que en el suelo control (alejado de la raíz). Por tanto, la rizosfera tiene mayor actividad metabólica en la descomposición de la materia orgánica del suelo, Carson (1974).

## 2.2. Efecto de rizosfera.

Es difícil establecer la influencia de las raíces - en el suelo debido a que todas las plantas, creciendo bajo -- condiciones naturales, viven en asociación con microorganismos, por lo que los experimentos que se realicen se verán dificultados por un tratamiento control inadecuado, Carson (1974). Esta influencia (efecto de rizosfera) resulta de la variedad de compuestos orgánicos liberados por las raíces, Rovira -- (1956) en Neal, Atkinson y Larson (1969).

Anteriormente se mencionó el término relación R:S - (nombrado por Katznelson 1936) y que se define como la relación del número de microorganismos en una unidad de peso de - suelo rizosférico (R), con la población en una unidad de peso del suelo alejado, no adyacente ó suelo control (S), Alexander (1961). También se mencionó que la relación R:S es sensible - a las condiciones de manipulación, lo cual puede conducir a - un aumento en la cantidad de suelo considerado como firmemente adherido a las raíces, acarreando una disminución en la -- relación R:S. Del mismo modo, una agitación excesiva puede -- desprender de la rizoplanea los microorganismos que están, en este caso, incluidos dentro de la rizosfera, Dommergues y -- Mangenot (1970). Es por esto que, aunque exista poca duda de que la relación R:S expresa el grado en que las raíces afectan ó influyen en la microflora del suelo, se necesita una -- serie de precauciones para evitar que se altere la relación - durante la manipulación.

Clark (1946), encontró que la relación R:S de plantas idénticas puede diferir considerablemente, al variar --- simplemente la cantidad de suelo adherido sobre las raíces -- durante la suspensión en el diluyente, Carson (1974).

Así pues, no es posible hacer comparaciones entre - resultados de diferentes trabajos, sobre la relación R:S. Las comparaciones entre plantas de diferentes especies necesitan

ser limitadas a aquellas que, razonablemente, tengan sistemas radicales aproximadamente similares; relaciones de peso-raíz-suelo, Gray y Williams (1971).

El efecto de estimulación ha sido detectado por diversos métodos, incluyendo cuenta en placa y cuenta directa. Aunque, probablemente, la manera más satisfactoria de medir la influencia de la raíz sobre la población, debe ser en términos del número de microorganismos por unidad de área de superficie de raíz, Carson (1974). Por la naturaleza heterogénea de la rizosfera es improbable que pueda encontrarse un método de muestreo simple y preciso, Dommergues y Mangenot (1970).

El efecto de rizosfera es consistentemente mayor en bacterias que en otros habitantes microbianos, debido a que las más altas relaciones obtenidas son para bacterias, siendo más bajas para actinomicetos y hongos y una relación baja estable para algas y protozoarios.

Generalmente se acepta que la actividad microbiana es mayor en la rizosfera que en el resto del suelo. De este modo se explica que los estudios sobre las bacterias de la rizosfera indicaran que dichos grupos fisiológicos, como las formas móviles, cromógenas, amonificadoras, desnitrificadoras, licuefactoras de la gelatina, formas que viven en medios con glucosa, peptona de reacción ácida ó alcalina y formas aerobias descomponedoras de la celulosa, se encuentren todas ellas en número más elevado en las rizosferas que en el resto del suelo. Sin embargo, los organismos nitrificantes, las formas anaerobias que descomponen la celulosa y los anaerobios fijadores de nitrógeno presentan, según se ha citado, una disminución del crecimiento en el seno de las rizosferas, Burgues y Raw (1971).

### 2.2.1. Factores externos que influyen sobre el efecto de rizosfera.

Los factores ecológicos actúan sobre la microflora rizosférica, directa ó indirectamente, es decir, por intermedio de la planta, especialmente al modificar la calidad y cantidad de los exudados radiculares. Entre los factores físicos se encuentran la humedad, temperatura y luz. Y de los químicos: fertilización y aplicaciones foliares, Dommergues y --- Mangenot (1970).

Humedad del suelo.- Los efectos de la humedad han sido estudiados en forma irregular debido, posiblemente, a las dificultades técnicas que presenta el cultivo de plantas en regímenes hídricos constantes y conocidos.

Clark y Thom (1939), han manifestado que entre los límites de humedad de 12 - 20 %, los valores de R:S no varían (R:S de 9), y con humedad de 24.5 % el valor de R:S cae a 4.5. Clark (1948) manifestó que la densidad de microorganismos era más alta junto a las raíces de los suelos más secos, en comparación con la correspondiente a suelos húmedos, Burgues y Raw (1971).

Ya que la elevación de la humedad del suelo, sobre un cierto umbral, puede modificar considerablemente el equilibrio microbiológico de la rizosfera, esta modificación puede ser benéfica si ello se traduce en inhibición de microorganismos patógenos, Peterson et al . en Dommergues y Mangenot (1970).

Temperatura.- La temperatura actúa sobre la microflora rizosférica controlando la cantidad y calidad de los exudados; en igual forma actúa la luz, Rovira (1956).

Aplicación de abonos minerales ó orgánicos.- Esta aplicación también actúa sobre la población microbiana rizosférica. El efecto ó estimulación más frecuente se manifiesta

por el acrecentamiento de la densidad absoluta de los microorganismos de la rizosfera. Este acrecentamiento de densidad puede compararse con una disminución de la relación R:S, si la fertilización estimula, al mismo tiempo, más fuertemente a la microflora del suelo fuera de la rizosfera. La acción de los fertilizantes se ejerce, a la vez, directamente sobre la microflora ó indirectamente por medio de la planta, donde la nutrición es mejor.

Aplicaciones foliares.- Las aplicaciones foliares de productos orgánicos ó minerales actúan sobre las plantas, no solamente por el efecto directo en mejorar su nutrición, ó en protegerlas contra los microorganismos fitopatógenos, -- sino en modificar la composición de la microflora rizosférica, Dommergues y Mangenot (1970).

La aplicación de soluciones nutritivas, antibióticos fungicidas, y reguladores del crecimiento mediante asperciones foliares, pueden tener efecto en la rizosfera debido a que estos productos, al ser transportados hacia las raíces, pueden quedar involucrados en fenómenos de adsorción, penetración, absorción, transposición y exudación.

Indirectamente, las aplicaciones foliares pueden -- influenciar a la población rizosférica. La aplicación de urea causó marcado incremento en la exudación de glucosa, fructosa, glutamina y alfa alanina y decreció la cantidad de ácidos orgánicos, Agnihotri (1964), en Carson (1974), por lo que un cambio en la exudación puede modificar la microflora de la rizosfera, Ramachandra-Reddy (1959), Venkata-Ram (1960); Horst y Kerr (1962); Vraný (1965) en Carson (1974).

### 2.2.2. Bacterias.

Las bacterias son, en general, más fuertemente estimuladas a nivel de la rizosfera que los actinomicetos, hon-

gos, algas ó protozoarios. Sin embargo, algunas bacterias son más sensibles y superan a sus competidores en la provisión de nutrimentos. Esto muestra que, generalmente, los bacilos gram negativos no esporulados son los más estimulados; mientras -- que los gram positivos no esporulados, cocos y bacterias formadoras de esporas lo son en menor grado.

Vagnerová, Macura y Catska (1960), observaron que el mayor crecimiento de bacilos gram negativos fué encontrado en la superficie de la raíz; mientras que el de bacilos gram positivos no esporulados ocurrió en suelo libre de raíces. -- Esto indica que estas bacterias estuvieron específicamente -- adaptadas a un medio ambiente diferente, Gray y Williams (1971).

Macura (1968), puntualizó que la sucesiva colonización de las raíces por microorganismos no depende solamente - del grado de crecimiento, sino que otros factores contribuyen como por ejemplo, la capacidad para usar el sustrato presente, la respuesta al medio ambiente y el antagonismo.

Lochhead y Thexton (1947), demostraron que las bacterias capaces de utilizar nitrógeno inorgánico y aminoácidos fueron estimulados en la rizosfera y, en mucho mayor grado, - que aquellas que requieren factores de crecimiento. Otros investigadores han demostrado que la amonificación, fermenta -- ción de azúcares, producción de acidéz, descomposición de la celulosa, desnitrificación, producción de vitaminas y de polisacáridos, se ven estimuladas en la rizosfera.

Riviere (1960), demostró que la relación R:S (rizosfera- suelo) para el trigo fué afectada por el estado de desarrollo de la planta. Martin (1971), en sus experimentos con trigo, centeno Lolium rigidum y trébol subterráneo, demostró que en cada especie de planta, el máximo desarrollo bacteria no ocurrió en el estado de floración. Estos experimentos indican que, aparte de los problemas de muestreo y técnica, se

pueden encontrar errores al comparar los efectos de rizosfera en diferentes especies de plantas sobre las bases de la relación R:S, a menos que sean tomados en varios estados de desarrollo de las plantas, Carson (1974).

Otras investigaciones han demostrado cierta correlación entre la fisiología y grupos taxonómicos de bacterias en la rizosfera. Sin embargo, Katznelson y Rouatt (1961) fueron capaces de demostrar que el género Pseudomonas fué característico de la rizosfera, mientras que Arthrobacter lo fué del suelo libre de raíces. Arthrobacter requiere de complejos factores de crecimiento, mientras que Pseudomonas crece sobre un medio nitrogenado relativamente simple.

Los bacilos cortos gram negativos de este habitat, son clasificados como especies de los géneros Pseudomonas, Achromobacter y, ocasionalmente, Agrobacterium; estos tres géneros parecen ser los más abundantes. Muchas otras bacterias han sido encontradas en la zona de la raíz, particularmente especies de Arthrobacter, Mycoplasma, Flavobacterium, Serratia, Sarcina, Alginomonas, Bacillus y Mycobacterium pero, aparentemente, no están bien adaptadas a ese medio ambiente, Alexander (1961).

Las bacterias anaerobias también son estimuladas por la raíz; esto se puede atribuir a la reducida tensión de oxígeno, resultante de la respiración microbiana más activa a ese nivel.

### 2.2.3. Hongos.

En contraste al efecto sobre las bacterias, las raíces no alteran apreciablemente la cantidad total de hongos.

Varios estudios de hongos involucran el uso de la técnica de dilución en placa para análisis cualitativo y cuantitativo. Sin embargo, este método ha demostrado ser selec-

tivo para hongos presentes como esporas en el suelo, Warcup - (1955), con lo cual se desvirtúa el método como medio de asegurar el desarrollo fungoso del suelo. Si consideramos a la rizosfera como una zona de elevado crecimiento fungoso (desarrollo micelial), se requiere una técnica más conveniente --- para medir este crecimiento, Parkinson y A. Thomas (1965).

El uso de la técnica de siembra en placa por dilución de suelo para el estudio de hongos, Parkinson y Moreau (1959), permite poco más que la apreciación de la capacidad de esporulación de las especies que, en el suelo de la rizosfera, podrían considerarse activas y de poca lucidez sobre el problema de determinar que cantidad de micelio activo, se encuentra presente en la rizosfera. Además, la rizosfera es una zona en la cual los hongos se encuentran presentes, principalmente en forma de micelio; mientras que en el suelo alejado de las raíces están predominantemente en forma de esporas. Los valores R:S calculados para los hongos deben tener poco significado a causa de la forma filamentosa en que crecen estos organismos.

El estudio sobre el efecto de rizosfera en hongos, exige emplear nuevas técnicas para el aislamiento de estos hongos existentes en la propia rizosfera en forma de micelio activo, Parkinson en Burgues y Raw (1971). Este mismo autor (1963), demostró la existencia de una sucesión de hongos en relación con la edad de la raíz; en las partes más viejas los hongos fueron abundantes y las especies cambiaron. Encontró además que, conforme crece la raíz a través del suelo, hay -- una sucesiva colonización en la raíz; la punta de la raíz está casi libre de hongos; la zona que le sigue contiene los -- colonizadores casuales; y las partes más viejas soportan hongos más especializados, incluyendo: Fusarium, Cylindrocarpon radícolá, Gliocladium sp, Penicillium sp, Trichoderma viride,

Carson (1974).

Parece que existe una mínima diferencia cualitativa entre los hongos del suelo de la rizosfera y los del resto del suelo, Webley, Eastwood y Gimmingham, (1952); Gomolyako (1956), (1957), (1958); Khalabuda (1958); Peterson (1958); Chesters y Parkinson (1959), entre otros, en Burgues y Raw (1971).

Se han citado relaciones R:S de 10 y 19 para los -- hongos en trigo y remolacha forrajera (Beta vulgaris) respectivamente, Katznelson (1960), empleando el método de dilución estandar, Carson (1974).

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

Papavizas y Davey (1961), demostraron que el efecto de rizosfera en hongos puede ser completamente negativo al -- adicionar residuos de cosecha, con ó sin nitrógeno mineral.

Sobre el papel de los hongos en la rizosfera se conoce poco. Algunos investigadores consideran que tienen un -- papel pasivo en la absorción de exudados radicales; mientras que otros opinan que la colonización de las raíces por los -- hongos debe influir sobre el metabolismo de las células radicales, debido a que ciertos hongos actúan como organismos -- micorrizicos, Dorokheva (1953), Bilai (1955), Khruscheva ---- (1960), en Burgues y Raw (1971).

#### 2.2.4. Actinomicetos.

Se les ha prestado poca atención a los actinomicetos en la rizosfera. No obstante, existe un número activo de estos microorganismos alrededor de la raíz, Gray y William -- (1971). Los actinomicetos merecen atención especial porque -- muchos de ellos, al producir antibióticos, resultan antagónicos a bacterias y hongos y, por tanto, inhiben a los patógenos

de la raíz. De esta manera juegan un papel importante en la modificación de la población bacteriana.

Los tipos encontrados en la rizosfera son similares a aquellos presentes en el suelo libre de raíz. Generalmente, predominaron especies de Streptomyces y Nocardia.

Riviere (1960), reportó en trigo, que la relación R:S para actinomicetos de la rizosfera interna fluctúan entre 26.1 y 35.1, y para los de la rizosfera externa de 2.1 a 11.5.

Por lo que respecta a los antagonistas, Rehacek -- (1956), encontró que el 22 % de actinomicetos aislados de la rizosfera de cereales inhibieron el potencial de hongos patógenos tales como: Fusarium oxysporum y Alternaria solani. -- Rouatt (1951), estableció que la rizosfera de trigo, avena, frijol, soya y papa, proporcionalmente, soportaron más actinomicetos antagonistas a bacterias, que el suelo control. Strzelezyk (1961), reportó resultados similares. Una gran proporción de los actinomicetos aislados de la rizosfera de trigo, rábano y cebolla fueron antagonistas a Azotobacter.

En la estimación del número de actinomicetos de la rizosfera se observa un problema similar al que se presenta al contar esporas de hongos. Generalmente, se acepta que las raíces estimulan menos a los actinomicetos que a las bacterias.

#### 2.2.5. Amonificantes.

Las relaciones R:S de bacterias amonificantes a menudo exceden de 50, Routt (1960). Como consecuencia, el suelo de rizosfera tendrá un alto potencial para la liberación de amonio a partir de la materia orgánica del suelo, en Carson (1974).

#### 2.2.6. Nitrificantes.

El nitrógeno mineral contenido en suelos de pradera

se considera, por lo general, bajo siendo una característica distinguible de suelos tropicales de sabana y pastos altos, - Nye y Greenland (1960). Theron (1951) y Broadbent (1962) han recorrido el proceso desde la inmovilización del nitrógeno por los microorganismos del suelo en presencia de una gran cantidad de sistemas radiculares fibrosos de pasto, hasta la supresión de las bacterias nitrificantes por los exudados tóxicos producidos por las raíces, en Odu y Akarelle (1971). A este respecto, Rice (1964), encontró que extractos de raíces de un amplio número de especies de plantas inhibieron la nitrificación con cultivos puros de nitrificantes.

Goring y Clark (1948), encontraron que el nitrógeno fué inmovilizado en la rizosfera, dando una aparente inhibición de la nitrificación ya que, después de eliminar las raíces, hubo una rápida acumulación de nitratos.

Recientemente Moore y Waid (1971), usando una técnica de lixiviación, demostraron que la solución de los lavados de raíces de hierbas pueden reducir la nitrificación en un 48 %. De la misma manera que las raíces lavadas de trigo, lechuga y cebolla, también redujeron la nitrificación, pero en una proporción menor.

La inhibición de la nitrificación, por la solución del lavado de raíces de pasto, persistió durante 30 días después del cese del tratamiento del suelo con esa solución. En el caso de lechuga y colza, la inhibición fué temporal únicamente, restableciéndose el proceso después de 5 días.

Estos experimentos eliminaron a la inmovilización y desnitrificación, como posibles causas del bajo contenido de nitrato, lo que confirmó el reporte de Theron (1951), acerca de que la inhibición de la nitrificación por raíces de pasto, fué responsable del bajo nivel de nitrato en suelo de praderas permanentes.

Esta mínima actividad en la rizosfera puede ser debida a :

- 1.- La inhibición por sustancias tóxicas Theron (1951), Soulides y Clark (1950), Munro (1966).
- 2.- Al bajo contenido de iones amonio en la rizosfera, - Mancura (1966) debido, a su vez, a la absorción de este ión por la planta y a la inmovilización por los microorganismos, Molina y Rovira (1964) en Dommergues y Mangenot (1970).

#### 2.2.7. Desnitrificantes.

Katznelson (1936), se sorprendió con el alto número de bacterias desnitrificantes en la rizosfera, si se considera que la pérdida de nitrógeno en esta zona no fué mayor que en el suelo control.

Bailey (1976), estudió el efecto de la temperatura sobre la desnitrificación en sistemas de raíz-suelo y suelo sin raíces. La proporción en desnitrificación en ambos sistemas, en términos de reducción de  $\text{NO}_3$  y producción de gas nitrógeno, fué mas rápida en el sistema suelo-raíz que en el suelo barbechado.

La adición de materiales orgánicos a los suelos ha demostrado tener un efecto estimulante sobre la desnitrificación, Bremer y Shaw (1958), Nommik (1956), Bailey y Beauchamp (1973). Los materiales orgánicos actúan como una fuente de carbono y como un donador de hidrógeno para las bacterias desnitrificantes.

#### 2.2.8.-Microorganismos fijadores libres de nitrógeno.

La ocurrencia de bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico en la rizosfera de plantas ha sido objeto de numerosos estudios, Allison (1947), y Allison Gaddy y Armiger --

(1947), pusieron de manifiesto que existía poco ó ningún desarrollo de Azotobacter en la región radical. Sin embargo --- Krasil'nikov (1958), citó un cierto número de ejemplos de estimulación de Azotobacter en la región radical, correspondientes a plantas cultivadas en suelos de Rusia; también demostró que en el sistema de rotación entre cultivos de alfalfa y cultivos de algodón, practicado en Asia central (3 años de alfalfa y 6 - 9 años de algodón), la población de Azotobacter aumentaba con la alfalfa, pero disminuía con el algodón. Este autor llegó a la conclusión de que ciertas especies de angiospermas estimulan el crecimiento de Azotobacter en el suelo, otras lo inhiben, y otras no ejercen efecto alguno sobre esta bacteria.

Katznelson y Strzelczyk (1961), investigaron las bacterias de la rizosfera de 17 plantas de cultivo, poniendo de manifiesto que la cuenta de Azotobacter daba cifras muy bajas, tanto en suelo de rizosfera como en el resto del suelo. Se llegó a la conclusión de que la reducida densidad de población era debida no a la inhibición de Azotobacter, sino a los efectos antagónicos de varios microorganismos activos del suelo frente a los cuales Azotobacter no podía competir, en --- Burgues y Raw (1971).

Trabajos recientes demostraron una abundante población de Beijerinckia sp. en la rizosfera de caña (Dobereiner 1959, 1961), de arroz (Dobereiner y Ruschell 1961) y de algunas gramíneas forrajeras (Ruschell y Dobereiner 1965).

Ruschell y Britto (1966), fueron los primeros en --- notar una gran cantidad de bacterias fijadoras de nitrógeno en la rizosfera de Paspalum notatum.

Se ha reportado una gran población de Azotobacter en el suelo de rizosfera, aunque con un incremento de únicamente 2 a 3 veces con respecto al suelo no rizosférico. Azo--

Azotobacter se ha encontrado en suelos con pH de 5.9 a 8.4. En aquellos suelos con pH menores a 5.9 donde no se encuentra -- Azotobacter existen otras bacterias fijadoras de nitrógeno -- tales como: Beijerinckia, bacteria aerobia típica de suelos tropicales ácidos, Clostridium sp, anaerobia e intermediario entre Azotobacter y Beijerinckia, en cuanto a sus requerimientos de pH, y de ciertas especies de Pseudomonas sp, que pueden ser responsables de la fijación de nitrógeno en suelos -- forestales ácidos, citado en Gray y Williams (1971).

El importante microorganismo Spirillum lipoferum, primeramente aislado por Beijerinck en 1923, y encontrado en ambos suelos, tropical y templado. Se ha aislado de raíces de Digitaria decumbens, otro pasto tropical; los trozos de raíz se colocan en un medio de malato, semi sólido libre de nitrógeno, y después de la incubación de 30 h. aparece una película alrededor de las raíces conteniendo un cultivo casi puro. Estos cultivos impuros son muy eficaces en la fijación de nitrógeno, llegando a ser superior a 40 mg de N/g de malato, en base a los análisis de nitrógeno total por el método de Kjeldahl, en Walker (1975).

Beijerinckia indica y Beijerinckia fluminensis, son comunes en suelos tropicales y mostraron un marcado efecto de rizosfera en algunas plantas, Dobereiner (1961) y Dobereiner y Campelo (1971). B. fluminensis forma un desarrollo encerrando dos ó más bacterias, posiblemente como una medida de protección del oxígeno.

Azotobacter está usualmente presente en pequeño número ó no sobre la superficie de la raíz, a menudo después de la inoculación. El crecimiento estimulado de la planta obtenido por inoculación con cultivo de Azotobacter, se piensa es debido a la producción de hormonas por la bacteria y no por la fijación de nitrógeno, Walker (1975).

### 2.3. Efecto de los microorganismos sobre las plantas.

Sobre este punto, actualmente se sabe que la microflora de la rizosfera actúa sobre la planta en la siguiente forma:

- 1) Directamente.- Por medio de sus productos metabólicos, de síntesis ó lólisis, que ejercen sobre la planta un efecto benéfico ó tóxico.
- 2) Indirectamente.- Modificando el medio químico (biodegradación de sustancias biológicamente activas, solubilización, mineralización ó inmovilización de los elementos nutritivos) ó físicamente, influyendo en la agregación, Dommergues y Mangenot (1970).

Actualmente se ha establecido que las plantas pueden absorber por sus raíces numerosas sustancias orgánicas: - fitohormonas, aminoácidos, vitaminas, antibióticos, derivados fenólicos, enzimas y proteínas. Las fitohormonas de origen microbiano que actualmente se conocen, pertenecen, a los tres grupos siguientes: auxinas, giberelinas y quininas.

Las giberelinas son sintetizadas por hongos, actinomicetos y bacterias. Se dice que las giberelinas se pueden aislar a partir de cultivos de Fusarium moniliforme, así como a partir de actinomicetos y de diversas bacterias tales como: Azotobacter chroococum, Vancura (1961). Entre las auxinas más comunes y estudiadas figura el ácido indol acético que es sintetizado por bacterias (Azotobacter chroococum, A. vinelandii, B. indica, B. fluminensis y Rhizobium sp.), y por ciertos hongos entre los que está el género Thaphrina.

Aún no se ha demostrado si las sustancias de crecimiento, producidas por la microflora de la raíz, son las causantes de los fenómenos descritos en relación con el desarrollo general de las raíces, Parkinson en Burgues y Raw (1971).

Los mecanismos por los cuales los microorganismos

afectan el crecimiento de las plantas no han sido elucidados todavía, pero se piensa que, como en el caso de Azotobacter, su efecto favorable bajo ciertas condiciones, puede ser debido a la producción de sustancias biologicamente activas. -- Entre estas se encuentran, vitaminas del grupo B (ácido pan--toténico, nicotínico y biotina), heteroauxina, giberelina y -- sustancias fungistáticas, Mishustin (1970).

Varios autores admiten que las plantas son capaces de absorber las vitaminas producidas dentro de la rizosfera, y que esta absorción favorece la asimilación de nitrógeno, -- Dommergues y Mangenot (1971).

La rizosfera es una fuente de producción de antibió--ticos en razón de la presencia de sustratos energéticos, que -- favorecen la proliferación de microorganismos sintetizadores de estas sustancias. Los antibióticos pueden ejercer sobre la planta un efecto directo al ser absorbidos por las raíces y, de esta manera, intervenir directamente modificando el equi--librio entre los microorganismos rizosféricos. Además, juegan un doble papel, protegen al vegetal contra la invasión de mi--croorganismos patógenos, ó modifican la fisiología de la plan--ta, Dommergues y Mangenot (1970).

En cuanto a la biodegradación de sustancias bioló--gicamente activas frente a las plantas, las sustancias tóxicas que aparecen dentro de la rizosfera después de los procesos -- de exudación por la planta ó de síntesis microbiana, son de--gradados poco más ó menos rápidamente por la microflora rizo--sférica. La biodegradación es favorable a la planta si ella -- actúa sobre los productos tóxicos y, por lo contrario, desfa--vorable si interfiere con las sustancias estimulantes.

Se ha encontrado que las sustancias reguladoras del crecimiento vegetal (fitohormonas), ó diversas sustancias es--timulantes, son degradadas. Tal es el caso del ácido indol --

acético ó de las giberelinas.

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

En lo concerniente a la modificación del medio químico (solubilización, mineralización ó inmovilización), la microflora rizosférica no solamente interviene en las transformaciones de N, P y K, sino además en las transformaciones de otros elementos tales como: Fe, Mn y Ca, Dommergues y Mangenot (1970).

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

Estudios de varios investigadores sobre la producción de reguladores de crecimiento por las bacterias, usadas como inoculantes, han demostrado que todas producen ácido indol acético y sustancias del tipo de las giberelinas en abundancia tal, como para causar cambios en la morfología de las plantas pero, si se aplican en trazas y en el estado adecuado de desarrollo de la planta, pueden cambiar el desarrollo completo de la planta, Brown en Burgues y Raw (1971).

El aprovechamiento del fósforo está influenciado por los huéspedes microscópicos de la rizosfera. Los cambios en la concentración de fosfato asimilable son de considerable consecuencia. Parece que la mineralización del fósforo orgánico, usando glicerofosfato y ácidos nucleicos como sustratos, es más rápida en la rizosfera que en el suelo libre de raíces, (Nilsson, P.E. 1957) en Alexander (1961). Sin embargo, la cantidad neta de fósforo liberado está limitada por la relativa relación de mineralización e inmovilización.

Entre otros aspectos de significancia agronómica a

nivel de la rizosfera, Morales (1977), reporta concentración de fósforo asimilable, que varió entre 5.60 y 9.38 kg/ha en el suelo influenciado por la raíz de caña de azúcar, y de 0.42 a 4.20 en el suelo alejado de la raíz. Esto induce a pensar en la presencia de una microflora activa, que aumenta la disponibilidad del fósforo.

En lo que se refiere al aprovechamiento de otros elementos, se ha observado que, en vista del amplio rango de sustancias orgánicas con propiedades quelantes liberadas por las raíces, el aprovechamiento de microelementos puede ser incrementado en la rizosfera. El consumo de Zn en particular, podría ser modificado considerablemente por la exudación, Carson (1974).

Los microorganismos en la rizosfera, probablemente también, alteran la solubilidad de fierro y manganeso. El fierro es utilizado en la forma ferrosa, y la conversión del estado férrico al estado ferroso es ocasionada por un incremento en acidéz ó por una caída en el potencial de óxido-reducción acompañando al metabolismo microbiano.

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

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

En vista del amplio rango de sustancias orgánicas con propiedades quelantes que son liberadas de las raíces, el aprovechamiento de microelementos puede incrementarse en la rizosfera.

Modificación del medio físico. El mejoramiento de la estructura del suelo de algunas comunidades vegetales, especialmente las praderas (dominantes en gramíneas), podría -- ser debido, en parte, a las sustancias con propiedades de -- agregación sintetizadas por los microorganismos capsulados ó que sintetizan sustancias gomosas, son más abundantes (en valor absoluto y quizá en valor relativo) en la rizosfera de -- algunas gramíneas que en el suelo fuera de la rizosfera, --- Dommergues y Mangenot (1970).

#### 2.4. Interacciones entre los microorganismos rizosféricos.

En el seno de la rizosfera, los fenómenos de sinergia, satelitismo y de antagonismo, son particularmente importantes. Estas interacciones juegan un papel importante en el equilibrio entre los microorganismos saprofiticos y patógenos.

2.4.1. Las asociaciones sinérgicas en la rizosfera son de importancia para la planta, si los microorganismos asociados son susceptibles de favorecer directa ó indirectamente su crecimiento. Por otra parte, se puede dar el caso de que las asociaciones sinérgicas puedan unir a los microorganismos -- patógenos y acrecentar su virulencia frente al huésped.

2.4.2. Antagonismo en la rizosfera. El antagonismo entre los microorganismos no presenta las mismas características, ni la misma intensidad en la rizosfera y en el suelo lejos de la raíz. Puede intervenir en dos formas:

Competencia.- Debido a que en la rizosfera las fuentes nutricionales y energéticas son limitadas, el mecanismo de -- competencia juega un papel importante en la protección de las plantas contra los patógenos. Se ha demostrado que las bacterias de la rizosfera y del suelo pueden limitar el crecimiento

to de hongos de la raíz de alfalfa utilizando, para su provecho, la tiamina y los nutrimentos minerales.

Antibiósis.- La densidad absoluta de los microorganismos sintetizantes de antibióticos es frecuentemente más elevada en la rizosfera que en el suelo no rizosférico, más su densidad relativa puede ser más débil. Estos microorganismos son, por lo regular, actinomicetos que ejercen una acción antagónica frente a las bacterias.

Nickell y Burkholder demostraron que los actinomicetos fueron fuertemente antagonistas a Azotobacter vinelandii, Patel, Brown (1969).

### 3.- Rizosfera de las gramíneas.

Ultimamente se han realizado numerosos trabajos sobre el estudio de los fijadores de nitrógeno no simbióticos restringidos a ambientes tropicales, debido a que ciertos pastos presentan efectos altamente estimulantes para estos microorganismos.

Aunque por más de una década se ha sugerido que en pastos tropicales ocurre una fijación de nitrógeno de importancia económica (Parker 1957, Moore 1963, Jaiyebo y Moore 1963, Dobereiner 1961, 1966), no fué sino hasta la introducción del método de reducción de acetileno, que se pudo confirmar estas observaciones y mostrar la estrecha asociación planta-bacteria de la cual depende la fijación de nitrógeno, Rinaudo, Balandreau y Dommergues (1971), Yoshida y Ancajas (1971), Dommergues Balandreau, Rinaudo y Weinhard (1973), Dobereiner (1975).

Entre las asociaciones mejor conocidas están la de caña de azúcar con Beijerinckia y la de Paspalum notatum con Azotobacter paspali, Dobereiner (1968). En esta última asociación se han obtenido valores de fijación de nitrógeno equiva-

lentes a una escala entre 15 - 93 kg/ha/año. La actividad -- nitrogenásica en la rizosfera de Paspalum notatum mostró ser dependiente de la actividad fotosintética de la planta, Dobereiner, Day y Dart (1972).

Town y White (1976), probaron la actividad nitrogenásica en la rizosfera de la gramínea Digitaria smutzii, incubando anaerobicamente raíces con suelo de rizosfera de este -- pasto durante 34 hrs, resultando una producción de 29 nmoles de  $C_2H_4$ /g de raíz/hr.

Day, Nevest y Dobereiner (1975), reportan la fijación de nitrógeno en pastos de Brasil, en una medida estimada en nmoles de  $C_2H_4/g^{-1}$  de raíz seca/h<sup>-1</sup>, resultando para Penisetum purpureum 750, Brachiaria mutica 750, Digitaria decumbens 341, Panicum maximum 299, Paspalum notatum 283, Cynodon dactylon 269, Melinis minutiflora 41 y para Hyparrhenia rufa 29 nmoles de  $C_2H_4$ . La actividad nitrogenásica varió con la -- estación del año, siendo máxima durante la actividad vegetativa del desarrollo, en dos de los pastos.

Se ha notado, durante la estimación de la actividad nitrogenásica, que hay una marcada variación con respecto a -- la especie ó variedad de planta, Town y White (1976).

Koch y Oya (1974), evaluaron la proporción de la -- fijación asimbiótica por reducción de acetileno en suelos de pastizal, indicando la presencia de ciertas bacterias capaces de incorporar 32kg/ha de N a ese suelo. Las bacterias responsables fueron identificadas como especies del género Klebsiella, Enterobacter y Achromobacter.

Se ha establecido la importancia económica de la -- asociación pasto tropical-bacteria, Balandreau y Villemin --- (1973) y Dobereiner y Day (1975), pero se conoce poco acerca del mecanismo de los microorganismos involucrados.

Tjepkema y Burris (1976), reportaron la actividad

nitrogenásica específicamente asociada con: Panicum virgatum y Sporobolus heterolepis cuya actividad se estimó de 3.6 a -- 2.9 kg de N/ ha<sup>-1</sup>/año<sup>-1</sup>, respectivamente siendo menor en otros pastos estudiados. Estas diferencias no son atribuidas a diferencias en el habitat ó tipo de suelo, sino que se presume que la reducción depende de los pastos y de su abastecimiento en energía.

En climas templados, unicamente en un número limitado de especies de pastos se ha establecido una alta actividad nitrogenásica, Paul, Myers, Raju y Seidler (1971).

Day y Dobereiner (1975), en sus estudios fisiológicos de Spirillum lipoferum lo reconocieron como el mejor microorganismo responsable de la fijación de nitrógeno en las raíces de la gramínea Digitaria decumbens. Estos autores reportan poca fijación por debajo 24°C, considerando un óptimo entre 32° y 40°C y una inactivación de la actividad nitrogenásica a 42°C. El crecimiento fué dependiente del pH, encontrándose que el óptimo ocurrió en una escala de 6.8 a 7.8; -- la fijación a un pH abajo de 5.5 y cerca de 8.0 fué menor a un cuarto de la óptima.

Azotobacter paspali crece en la rizosfera de Paspalum notatum donde se piensa realiza una activa fijación de nitrógeno y, por consiguiente, mejora el crecimiento del pasto. Se considera además, que Azotobacter paspali mejora el crecimiento primario, al producir sustancias reguladoras del crecimiento. Se ha demostrado que cultivos de Azotobacter paspali mejoran el crecimiento de plantas jóvenes y maduras sin -- una necesaria fijación de nitrógeno, Brown (1976).

La actividad nitrogenásica alrededor de las raíces puede ser inhibida por el nitrógeno aprovechable. Se ha podido observar únicamente desarrollo de la actividad nitrogenásica, cuando el rápido crecimiento de la planta ha consumido

este nitrógeno. Esto lo confirma Day (1975), al encontrar que la adición de fertilizante nitrogenado, como nitrato ó amonio, producen un decremento en la actividad de la nitrogenasa, pero después de una semana, cuando el fertilizante ha sido utilizado, la actividad retorna a su proporción normal.

Brown (1976), reporta la actividad nitrogenásica dentro del mismo orden ya establecido por Day (1975), en asociaciones con diferentes cultivos de Paspalum notatum, reportando entre 13 y 79 nmoles de etileno /g<sup>-1</sup> de raíz seca, y no siempre se asoció con la presencia de Azotobacter paspali sobre las raíces.

Por lo que respecta a estudios realizados sobre la microflora en gramíneas, se encuentran los efectuados por: - Rovira, Newman, Bowen y Campbells (1973); en los que se estima la población bacteriana sobre raíces de diversos especímenes de pradera combinando la cuenta directa de bacterias teñidas (in situ), con técnicas patrón de muestreo de plantas. -- Las cuatro especies estudiadas de pasto fueron: Anthoxantum odoratum L., Cynosurus cristatus L., Holcus lanatus L. y -- Lolium perenne L. y además, cuatro dicotiledoneas. Estos autores reportan, en las ocho especies examinadas, que de un 4 a 10 % de las raíces presentaron una cubierta bacteriana. La estimación del número de bacterias, por microscopía directa, -- fué cerca de 10 veces mayor que la estimada por cuenta en -- placa.

Old y Nicolson (1974), usaron el microscopio electrónico de barrido (transmission Scanning) para estudiar la microflora de raíces de tres especies de pastos desarrollados en duna: Ammophila arenaria (L), Agropyron junceiforme y -- Festuca rubra L var. arenaria. En este trabajo, la superficie de la raíz varió grandemente al observar la presencia de bacterias adheridas, como partículas, a su superficie, pudiendo-

se apreciar además, microcolonias ó grupos de células divididas. La apariencia de diferentes raíces y a menudo en diferentes lugares de la misma raíz, varió considerablemente. En algunas raíces, la superficie fué, a menudo, parcialmente cubierta con material mucilaginoso. Las células y pelos radicales, carentes de mucigel, se apreciaron extensivamente colonizadas por bacterias y actinomicetos, que deben estar adheridos muy fuertemente, Old y Nicolson (1974).

Morales (1977), en su estudio microbiológico de la rizosfera de la caña de azúcar, la microflora total se ve -- considerablemente estimulada por la raíz, variando en el suelo de  $22 \times 10^5$  a  $45 \times 10^5$ , y en la rizosfera de  $10 \times 10^6$  a --  $13 \times 10^6$ . Dentro de los ciclos del nitrógeno, carbono y azufre, los microorganismos amonificantes fluctuaron, en el suelo, de  $40 \times 10^3$  a  $11 \times 10^4$ , y en la rizosfera de  $20 \times 10^4$  a  $11 \times 10^5$ ; los desnitrificantes, en suelo, de  $8 \times 10^3$  a  $17 \times 10^3$ , y en la rizosfera de  $12 \times 10^3$  a  $20 \times 10^3$ ; los fijadores de nitrógeno de vida libre, en suelo de  $5 \times 10^2$  a  $1 \times 10^3$ , y en la rizosfera de  $4 \times 10^3$  a  $13 \times 10^3$ ; Nitrosomonas sp en suelo, de  $1 \times 10^2$  a  $3 \times 10^2$ , y en rizosfera de 384 a  $18 \times 10^2$ ; - Nitrobacter sp en suelo, de 59 a 172, y en rizosfera de 139 - a  $1 \times 10^3$ ; celulolíticos, en suelo, de 46 a 159, y en rizosfera de  $6 \times 10^3$  a  $8 \times 10^3$ , y los microorganismos reductores de sulfatos, en suelo, de 585 a 1729, y en rizosfera de 602 a  $7 \times 10^3$ . Resulta de importancia en este trabajo, el notable incremento, tanto del fósforo asimilable como del nitrógeno total en el suelo de rizosfera, en relación al suelo alejado de la raíz. Esto sugiere la existencia de una microflora relacionada con la disponibilidad e incorporación, respectivamente, de estos dos nutrimentos indispensables, a ese nivel.

### III MATERIALES Y METODOS

#### 1.- Localización de la zona de estudio.

Los sitios de estudio se localizan en las inmediaciones de los poblados de Palma Sola y Tinajitas, en la costa central del Estado de Veracruz.

El sitio 1 se encuentra a  $19^{\circ}47'$  de Latitud norte y a  $96^{\circ}26'$  de Longitud oeste, aproximadamente a 1000 m de la playa. La vegetación corresponde a la de una pradera costera.

El sitio 2 se localiza geográficamente a  $19^{\circ}38'$  de Latitud norte y  $96^{\circ}27'$  de Longitud oeste, aproximadamente en el km 90 de la carretera Nautla - Veracruz. El sitio se encuentra próximo a la Laguna de Farallon y a la altura de la desviación al poblado de Tinajitas. Este sitio de estudio comprendió suelos cultivados con maíz y chile.

El sitio 3 se localiza a 1 km al sur del sitio 1, y a 6 km del sitio 2 sobre la misma carretera Veracruz - Nautla. Corresponde a un suelo virgen con vegetación dominante de gramíneas, a poco más o menos 1500 m de la playa.

#### 2.- Clima.

Los tres sitios de estudio quedan comprendidos en la zona térmica cálida del Estado de Veracruz, con una temperatura media anual entre  $22^{\circ}$  y  $26^{\circ}\text{C}$ , una precipitación media anual entre 1500 y 2000 mm, de clima húmedo Am (caliente húmedo con lluvias en verano). En base a la estación climática de Juchique de Ferrer, la más cercana a ellos, y de acuerdo al sistema de clasificación climática de Köpen modificado por García (1970), los sitios de estudio corresponden a un clima del tipo Af (m) (e), es decir:

Af - clima caliente y húmedo con lluvias todo el año,

(m) - % de lluvia invernal con respecto a la anual menor de --

18 %, y

(e)- extremo con oscilación anual de las temperaturas medias mensuales entre 7° y 14°C.

### 3.- Antecedentes Geológicos.

Según el estudio de Demant A.- Robin C. (1975), la zona objeto de la presente investigación, forma parte de una serie de intrusiones volcánicas que se encuentran en las planicies costeras de la Provincia Magmática Oriental, que comprende desde el norte de Tamaulipas hasta Veracruz, con orientación NNW - SSE.

La zona de Palma Sola, presenta dos líneas magmáticas distintas: Una serie calco-alkalina con predominancia de andesitas básicas de olivino, acompañadas por andesitas, dacitas e intrusiones microdioríticas. Esta fase de actividad - relacionada con la actividad miocénica del Eje Neo - Volcánico Trans - Mexicano, está recubierta por derrames basálticos que se parecen a las series de las planicies (basanitas) ó a los "trapps" del altiplano.

### 4.- Suelos.

No existiendo estudios edafológicos previos sobre el área de estudio, se mencionan a continuación únicamente - aquellos trabajos recientes realizados en el Estado de Veracruz que, en ciertos aspectos, se relacionan con la presente investigación.

El estudio realizado por Torres (1976), en el transecto Teziutlan - Puebla a Jalapa Veracruz; y el de Loran -- (1976), en el transecto Jalapa - Teocelo, Veracruz. En estos estudios se reportan suelos derivados de cenizas volcánicas cuya clasificación cae dentro del orden de los inceptisoles (clasificación del U.S.D.A., 7ª aproximación). Entre otras -

características, generalmente estos suelos presentan color -- pardo, café y gris; con una densidad aparente de 0.59 a 1.47 g/ ml; con texturas migajón arcillosa, migajón arenosa y arcilla y franca. La reacción del suelo (pH) se presenta de ácida a neutra. Materia orgánica en porcentajes de 6.57 a 14.8. La capacidad de intercambio catiónico total (C.I.C.T.) de 8.10 a 47 meq/100 g. Se menciona la existencia de alofano, arcilla - típica de los andosoles, y de óxidos de fierro.

Algunas de estas características concuerdan con el estudio realizado por Morales (1977) quien reporta, en los -- municipios de Dos Rios y Emiliano Zapata al oriente de la Cd. de Jalapa, suelos de color pardo ó gris; con densidad aparente de 1.20 a 1.39 g/ml; de textura arcillosa; pH de 5.7 a 6.8; C.I.C.T. de 19.4 a 39 meq/100 g; materia orgánica de 1.4 a -- 3.06 % y nitrógeno total, fósforo y potasio en valores que -- van de 0.06 a 0.44 %; de 0.42 a 9.38 kg/ha; y de 0.0 a 0.21 - meq/ml, respectivamente.

## 5.- Muestreos.

### 5.1. Suelos

Del sitio 1 se colectaron muestras de 0 - 20 y 20 - 40 cm de profundidad; del sitio 2 se colectó suelo de la capa arable 0 - 30 cm y, por último, del sitio 3 de 0 - 60, 60 - 80, 80 - 140, 140 - 164, 164 - 174 y 174 - 184 cm de profundidad, en base a la estratificación observada en el perfil.

Las muestras de suelo destinadas para análisis mi-- crobiológico fueron colectadas en frascos estériles, mantenien-- dose en refrigeración hasta su utilización.

Para la estimación de las propiedades físicas y quí-- micas, las muestras de suelo fueron colectadas en bolsas de polietileno y, posteriormente, fueron secadas al aire y tami-- zadas por la malla No 20.

## 5.2. Plantas.

Las plantas fueron colectadas con su correspondiente "terrón" y colocadas en bolsas de polietileno, con el propósito de que los ejemplares se alteraran lo menos posible y se conservaran vivas hasta el momento de su utilización.

Las gramíneas colectadas fueron de las siguientes -- especies: en el sitio 1, se colectaron ejemplares de Setaria geniculata (Lam) Beauv y de Sporobolus sp; del sitio 2 se colectó Panicum fasciculatum, y del sitio 3 la gramínea del género Hyparrhenia rufa (zacate jaragua). Cada colecta comprendió entre 15 y 20 individuos aproximadamente. El criterio que se siguió para la elección de los ejemplares de colecta, fué en base a su mejor desarrollo, el cual fué estimado visualmente por su mayor tamaño y el color verde más oscuro de sus hojas.

## 6.- Determinaciones físicas y químicas.

- a) Color.- Se determinó, en seco y en húmedo por comparación con las tablas Munsell (1954).
- b) Densidad aparente.- Por el método de la probeta.
- c) Densidad real.- Se efectuó por el método del Picnometro, Thompson (1965).
- d) Textura.- Por el método de Bouyoucos (1963).
- e) Reacción del suelo.- Se llevó a cabo por el método potenciométrico, para lo cual se usó un potenciómetro marca Corning, Modelo 10, con relaciones suelo - agua y suelo - sol. KCl de 1:2.5, Jackson (1964).
- f) Capacidad de Intercambio Catiónico Total.- Se determinó por el método de centrifugación, saturando la muestra con cloruro de calcio 1 N pH 7 y titulando el calcio finalmente con Versenato 0.02 N, Jackson (1964).

- g) Cationes solubles (Na y K).- Por el método Flamométrico, utilizando un flamómetro marca Evans.
- h) Cationes intercambiables (Ca y Mg).- Se determinaron por extracción con acetato de amonio 1 N pH 7, mediante centrifugación y titulación con EDTA.
- i) Fósforo asimilable.- Por el método colorimétrico -- Bray I, azul molibdofosfórico, con un colorímetro -- marca Coleman, Junior, Mod. 6A.
- j) Materia orgánica.- Por el método de Walkley y Black modificado por Walkley (1947)
- k) Nitrógeno total, sin incluir nitratos.- Se determinó por el método de Kjeldahl, A.O.A.C. (1970).

## 7.- Determinaciones microbiológicas

### 7.1.- Análisis microbiológico de la rizosfera y del suelo.

Las raíces de cada una de las especies de gramíneas colectadas procedentes aproximadamente de 15 a 20 individuos, fueron sometidas a sacudidas enérgicas, dentro de bolsas de polietileno, con el propósito de eliminar el suelo no rizosférico. Las raíces conteniendo el suelo firmemente adherido a ellas, cortadas y mezcladas asépticamente, constituyeron el material a partir del cual se hicieron las diluciones para las estimaciones microbiológicas.

Para el análisis del suelo, se obtuvieron muestras representativas de cada uno de los sitios de estudio, para este propósito, las muestras del suelo colectadas en cada uno de los pozos de cada sitio, fueron mezcladas, homogeneizadas y cuarteadas asépticamente.

Las diluciones se prepararon con suelo y raíces húmedas.

La cuantificación de los microorganismos, tanto del suelo como de la rizosfera, se llevó a cabo mediante el método

do de las diluciones utilizando medios con agar y líquidos de composición química específica.

Con el propósito de evitar plasmólisis en las células microbianas, se utilizó solución Ringer en todas las diluciones.

## 7.2. Medios de cultivo.

- a) Microflora total.- Para bacterias y actinomicetos, se utilizó el medio extracto de suelo-agar, Bunt y Rovira (1955). Los hongos se estimaron -- con el medio de Rosa de Bengala estreptomycin-agar, Martin (1949).
- b) Microorganismos del ciclo del nitrógeno.- Para estimar los amonificantes, se preparó el medio selectivo de Katznelson (1946); para nitrificantes (Nitrosomonas sp. y Nitrobacter sp.) el usado por Barkworth (1965); el medio selectivo utilizado para los desnitrificantes fué el de Timonin (1946). En el caso de los fijadores de nitrógeno atmosférico, se usó el medio de Lipman (1963).
- c) Microorganismos del ciclo del carbono y azufre.- Para los celulolíticos se utilizó el medio de -- Dubos (1928). Y el método de Starkey modificado, Garassini (1950), para los reductores de sulfatos.

Se utilizaron 5 placas ó 5 tubos por dilución, según el medio de cultivo selectivo, aplicando 1 ml. de inóculo para cada placa y tubo.

Para el cálculo de los microorganismos por gramo de suelo ó raíz secos, se hizo la estimación de la humedad original. La humedad del suelo se determinó a 105°C y la de las raíces a 50°C, en ambos casos, hasta peso constante.

7.3. Períodos de incubación.

hongos	- 5 días
desnitrificantes	- 7 días
bacterias	- 8 días
actinomicetos	- 8 días
fijadores libres de N	- 8 días
reductores de sulfatos	- 9 días
amonificantes	- 15 días
nitrificantes	- 28 días
celulolíticos	- 30 días

Todos los medios inoculados fueron incubados a 28°C.

#### IV RESULTADOS Y DISCUSION

##### 1.- Características físicas y químicas de los suelos.

Los resultados de las propiedades físicas y químicas, se muestran en los cuadros 1 y 2 respectivamente.

##### Color.

En el cuadro 1 se puede observar que los sitios 1 y 2, a las profundidades de 0 - 20 y 20 - 40 cm, y en el sitio 3, a las profundidades 0 - 60 y 60 - 80 cm, el color en húmedo varió de negro a negro parduzco; y de café a café muy oscuro en el resto de las profundidades de este último sitio.

La determinación del color en seco nos dió, también, variaciones de negro a negro parduzco en el sitio 1, y de café a café muy oscuro en las profundidades superiores de los sitios 2 y 3. En los tres sitios de estudio, las coloraciones más oscuras concuerdan con los más altos contenidos en materia orgánica. En el sitio 3, de 80 - 140 a 174 - 184 cm de profundidad, las tonalidades variaron entre café claro y amarillo pálido, respectivamente; las tonalidades más claras en este caso se relacionan con bajos contenidos en materia orgánica.

##### Textura.

En los tres sitios de estudio predominan los suelos con texturas moderadamente fina y fina, es decir, migajón arcilloso y arcilla; teniéndose únicamente en el sitio 3 texturas medias, migajón limoso y franco, a 140 - 164 y 174 - 184 cm de profundidad, respectivamente.

##### Reacción del suelo.

En el cuadro 2 se muestran los datos de la reacción

del suelo (pH). Se aprecia que, en los tres sitios, los suelos dieron reacción ácida, fluctuando entre 5.6 y 6.1 en agua, y de 5.0 a 5.7 en KCl. No se observa una correlación clara entre el pH y la profundidad.

#### Capacidad de intercambio catiónico total.

La capacidad de intercambio catiónico total varió entre 30 y 50 meq /100 g, valores que se pueden considerar -- altos, similares a los reportados por otros autores en suelos de origen volcánico y que se relacionan con elevado contenido de coloides inorgánicos de tipo alofánico, y a las texturas -- arcillosas, Fassbender (1975), Torres (1976).

En algunos casos, estos valores concuerdan con valores altos de materia orgánica, como se aprecia en los niveles superficiales de los tres sitios de estudio.

#### Cationes solubles.

El sodio soluble fluctuó entre 0.34 y 2.91 meq/l, valores que corresponden al sitio 3 a 164 - 174 cm, y al sitio 1 a 20 - 40 cm de profundidad, respectivamente. El potasio dió valores entre 0.11 y 1.23 meq/l, correspondientes al sitio 3 a 164 - 174 cm y 0 - 60 cm de profundidad, respectivamente. Los valores de sodio y potasio solubles, en todos -- los casos, se pueden considerar bajos.

#### Cationes intercambiables.

Los valores de calcio y magnesio intercambiables -- indican, como en el caso anterior, una relativa pobreza en -- bases. El calcio fluctuó entre 11 y 22 meq/100 g, valores que corresponden al sitio 3 a 164 - 174 cm y al sitio 2 a 0 - 20 cm de profundidad. El magnesio varió entre 10 y 18 meq/100 g, tales valores corresponden al sitio 2 a 0 - 20 cm y al sitio

3 a 164 - 174 cm de profundidad, respectivamente.

#### Fósforo.

A excepción del sitio 2, a 0 - 20 cm de profundidad, en el que se estimó un contenido de fósforo de 50.4 kg/ha, que cae dentro de un valor medio, en todos los casos se detectaron niveles muy bajos de este elemento, los cuales fluctuaron entre 1.4 y 13.0 kg/ha. Estos valores bajos de fósforo son -- frecuentes en suelos derivados de material volcánico, en los que suele ser frecuente una elevada fijación de este elemento.

#### Materia orgánica.

Por lo que respecta a la materia orgánica, se reportan valores que van de altos a bajos, disminuyendo en función a la profundidad. Los valores bajos de 0.60 a 1.48 %, corresponden a capas profundas del sitio 3 a 174 - 184 y 140 - 164 cm de profundidad, respectivamente. Los valores medianamente bajos de 2.35 y 2.49 % corresponden a las profundidades de -- 80 - 140 y 164 - 174 cm de profundidad, respectivamente. El porcentaje de 4.71 puede considerarse como medianamente alto y se detectó en los sitios 1 y 2 a 20 - 40 y a 0 - 20 cm de profundidad, respectivamente. Los valores altos de 7.27, 6.73 y 6.78 %, se detectaron en el sitio 3 a 60 - 80 y 0 - 60 cm, y en el sitio 1 a 0 - 20 cm de profundidad, respectivamente.

#### Nitrógeno total.

Los valores detectados de este elemento variaron de medios a altos, con excepción de la capa más profunda del sitio 3, en la cual el contenido de este elemento fué bajo. Los valores de 0.33 y 0.23, considerados como altos, se detectaron en los sitios 1 y 3 a 0 - 20 y 0 - 60 cm de profundidad, respectivamente. Los valores medios, 0.15 y 0.17 correspon---

diendo el primer valor, a los sitios 1 y 3 a 20 - 40 y 140 - 164 cm de profundidad, respectivamente, y el segundo a las -- profundidades de 0 - 20 y 80 - 140 cm de los sitios 2 y 3 respectivamente. En términos generales, se aprecia que el nitrógeno tiende a disminuir con la profundidad, en forma similar a lo observado con el contenido de materia orgánica.

Relación Carbono - Nitrógeno C/N.

Esta relación varió de media a baja, con excepción de la reportada en el sitio 3 a 60 - 80 cm de profundidad, la cual resulta ser alta.

2.- Población microbiana en los suelos.

2.1. Microflora total.

Los valores obtenidos de la estimación de la microflora total se concentran en el cuadro 3. Se puede observar que, en general, la microflora total es baja. Esto posiblemente se deba al pH ácido de los suelos, el cual afecta el desarrollo de estos microorganismos, particularmente el de las -- bacterias. También se puede apreciar que la microflora total, con excepción de los hongos, fué mayor en el sitio 2, en orden decreciente en el sitio 3 y, por último el sitio 1 con la menor población.

Los grupos microbianos se presentaron en el siguiente orden de abundancia: la mayor fué para las bacterias, siguiendo en orden decreciente, los actinomicetos y, finalmente, los hongos.

Bacterias.

Por lo que respecta a las bacterias, el sitio 2 a 0 - 20 cm de profundidad, presentó la mayor estimación, --- 1,768,576 bacterias por gramo de suelo seco, este valor puede

ser debido a que se trata de la capa arable de un suelo cultivado, con porcentajes de materia orgánica y nitrógeno total - medianamente altos. La estimación microbiana en los otros sitios varió entre 205,763 y 506,740 bacterias/g de suelo seco, valores que corresponden al sitio 1 a 20 - 40 cm y al sitio 3 a 0 - 60 cm de profundidad, respectivamente. Estos valores se ven disminuidos conforme a la profundidad y, en algunos casos, se correlacionan con una disminución en el porcentaje de la -- materia orgánica.

#### Actinomicetos.

La población de actinomicetos se presenta en proporciones similares de abundancia a la de las bacterias en los tres sitios de estudio. El sitio 2 con la mayor población, -- que fué de 497,556; sitio 3 con una población de 46,750 a 80-140 cm de profundidad; y el sitio 1 con la menor población de actinomicetos, 33,670/g de suelo seco a 20 - 40 cm de profundidad.

En las muestras de suelo restantes, correspondientes a los sitios 1 y 3, se presentó una población que varió entre 113,444 y 193,708 actinomicetos /g de suelo seco, pertenecientes al sitio 3 a 60 - 80 cm de profundidad y al sitio 1 a -- 0 - 20 cm de profundidad, respectivamente.

#### Hongos.

La mayor población fungica, se presentó en el sitio 3 a 0 - 60 cm de profundidad, con una población de 109,106 -- hongos/g de suelo seco. Por lo que respecta a los otros sitios se presentaron en una proporción que varió de 214 a 8,112 hongos/g de suelo seco, valores que corresponden al sitio 3 a - 80 - 140 cm de profundidad y al sitio 2 a 0 - 20 cm de profundidad. En todos los casos la población disminuyó con la pro--

fundidad.

Los valores altos correspondientes al sitio 2, coinciden con valores medianamente altos de materia orgánica y nitrógeno total, así como también con un valor medio de fósforo debido, probablemente, como se mencionó anteriormente, a que se trata de un suelo cultivado y fertilizado.

En lo que se refiere a la población de actividad metabólica específica (cuadro 4 y 5) se aprecia lo siguiente.

La población reportada, en general es baja debido, entre otras causas, probablemente al bajo contenido en bases, que tiende a dar una reacción ácida en los suelos.

## 2.2. Microorganismos del ciclo del nitrógeno.

Los grupos microbianos se presentaron en orden decreciente como sigue:

La población más elevada corresponde a los amonificantes; le siguen los fijadores de nitrógeno; siguiendo en número los desnitrificantes y, finalmente la menor población la dieron los nitrificantes, en cantidades similares para los dos géneros (Nitrosomonas sp y Nitrobacter sp). A excepción de los desnitrificantes a la profundidad 20 - 40 cm en el sitio 1, la microflora disminuyó como en los casos anteriores, en función de la profundidad.

La población amonificante, al igual que en la microflora total, se presentó con la máxima abundancia en el sitio 2 a 0 - 20 cm de profundidad. La población en las muestras de suelo restantes, varió de 4,007 a 138,363/g de suelo seco, pertenecientes a los sitios 3 a 80 - 140 cm y al 1, a 0 - 20 cm de profundidad, respectivamente.

De la población nitrificante, Nitrosomonas sp resultó ser más abundante que Nitrobacter sp, a excepción del sitio 1 en el que, en las dos profundidades, se presentó una pobla-

ción casi nula de 1 /g de suelo. La mayor población de Nitrosomonas correspondió al sitio 3, a 0 - 60 cm, con una población de 6,034. Para Nitrobacter, a excepción del sitio 2 en donde presentó la mayor abundancia con una población de 35 /g de suelo, en el sitio 1 la población fué de 1/g de suelo -- seco (casi nula), y nula en todas las profundidades del sitio 3. Estos resultados posiblemente sean debidos a la acidéz del suelo.

Los microorganismos desnitrificantes fluctuaron de 2,004 a 47/g de suelo seco, correspondiendo tales valores a los niveles del sitio 2 (capa arable) y al sitio 3 a 80 - 140 cm de profundidad. Por los datos expuestos se puede ver que, en todos los suelos, la población desnitrificante fué muy baja, probablemente debido a que las condiciones fisicoquímicas de los suelos no resultaron favorables para este grupo de microorganismos.

La población de fijadores de nitrógeno varió de -- 39,245 a 1,255/g de suelo seco. Estos valores corresponden al sitio 1 a 0 - 20 cm, y al sitio 3 a 80 - 140 cm de profundidad, respectivamente. La población de estos microorganismos -- se ve coincide con una baja relación C/N que favorece la mineralización del nitrógeno.

### 2.3. Microorganismos del ciclo del carbono y del azufre.

En el cuadro 5 se reporta la estimación de estos -- microorganismos, la cual fluctuó, en los microorganismos celulolíticos, entre 530,570 y 33/g de suelo, en los sitios 2 a 0 - 20 cm y 3 a 80 - 140 cm de profundidad, respectivamente. Como en los casos anteriores, el sitio 2 fué el de mayor población, en este caso, de celulolíticos. Dentro de los microorganismos del ciclo del azufre, los microorganismos estimados fueron los reductores de sulfatos, los cuales dieron --

una máxima población, 4,402/g, en el sitio 1 a 0 - 20 cm de profundidad, y la mínima población, 42/g, también en el sitio 1, a 20 - 40 cm de profundidad (cuadro 5).

### 3. Efecto de rizosfera.

#### 3.1. Microflora total.

El efecto de rizosfera se manifestó de manera positiva en la microflora total, es decir, se presentó un incremento en la población de bacterias, actinomicetos y hongos. La máxima estimulación sobre estos tres grupos microbianos se aprecia en la rizosfera B de Sporobolus sp, (cuadro 1). En este caso, la máxima población corresponde a las bacterias, siguiendo en número los actinomicetos y, finalmente, los hongos con la menor población. Con respecto a densidad de población por efecto estimuladorio, le siguen a Sporobolus sp, en orden decreciente, Setaria geniculata (rizosfera A), Panicum fasciculatum (rizosfera C) y, finalmente, Hyparrhenia rufa (rizosfera D) con la menor población.

En la rizosfera de Sporobolus sp, se detectó la máxima población bacteriana y de actinomicetos, 50,530,057,050/g y 8,162,547,678/g población que, con respecto a la densidad de estos microorganismos en el suelo no rizosférico, dieron relaciones R:S de  $2363/10^2$  y de 42,130, para bacterias y actinomicetos, respectivamente. La población más baja en estos dos grupos microbianos se estimaron en la rizosfera de Hyparrhenia rufa, 105,634,052/g y 13,737,164/g, que corresponden a una relación R:S de 208 y 95, para bacterias y actinomicetos, respectivamente.

La máxima población fúngica fué detectada también en la rizosfera de Sporobolus, 734,629/g que dió una relación R:S de 270.3. La menor relación R:S de 90.4 en este grupo microbiano se obtuvo con Setaria geniculata. Con Hyparrhenia---

rufa no se apreció ningún efecto estimuladorio en la población de hongos.

La cantidad y naturaleza de los exudados radiculares son dos de los factores más importantes, que determinan la -- mayor ó menor densidad de población en la rizosfera de una -- planta. Es muy posible que estos dos factores hayan sido los determinantes de la más baja densidad de población en la microflora total. Es necesario hacer notar que el sitio 3 de -- Hyparrhenia rufa, posee el pH más alto en comparación con los otros sitios, convirtiéndose en un medio más favorable para los hongos, especialmente por la competencia natural que existe entre estos dos grupos microbianos.

### 3.2. Microorganismos del ciclo del nitrógeno.

El efecto de rizosfera en estos microorganismos se aprecia en alto grado en la mayoría de los grupos (cuadro 4). Este efecto se manifestó, en primer lugar, en los microorganismos amonificantes siguiendo, en orden decreciente, en los desnitrificantes, fijadores libres de nitrógeno y, por último, en los microorganismos nitrificantes (Nitrosomonas sp y Nitrobacter sp).

El máximo efecto de rizosfera se obtuvo con Setaria geniculata (rizosfera A), siguiendo en menor grado, Sporobolus sp (rizosfera B), Hyparrhenia rufa (rizosfera D) y Panicum fasciculatum (rizosfera C).

Amonificantes.- En los tres sitios de estudio los microorganismos amonificantes fueron extraordinariamente estimulados; los valores de R:S fluctuaron entre 83.5 y  $2102/10^2$ , en las rizosferas de Panicum fasciculatum y Sporobolus sp, respectivamente.

En los microorganismos nitrificantes el efecto de rizosfera solamente se apreció en el sitio 1. Los valores R:S

de Nitrosomonas sp son de 93 y 930, en las rizosferas de Sporobolus sp y Setaria geniculata, respectivamente; y con Nitrobacter sp de 25 y 27, en Setaria geniculata y Sporobolus sp, respectivamente.

Es importante hacer notar que el efecto de rizosfera positivo, detectado en Sporobolus sp y Setaria geniculata, sobre los microorganismos nitrificantes, no concuerda con lo expuesto por Steven (1952); Molina y Rovira (1964); Rice (1964) y Moore y Waid (1971), sobre el efecto inhibitorio de los exudados y extractos radiculares sobre la flora nitrificante.

Desnitrificantes.- Los valores R:S para estos microorganismos varían entre 1.1 y 39,278, valores que corresponden a las rizosferas de Sporobolus sp e Hyparrhenia rufa, respectivamente. Los valores más altos corresponden a Sporobolus sp, antes mencionado, y a Setaria geniculata con un valor R:S de 38.

Fijadores libres de nitrógeno. Uno de los aspectos más importantes en la presente investigación, fué el de evaluar el posible efecto estimulador de estas gramíneas sobre estos microorganismos fijadores de nitrógeno, debido a los interesantes resultados que, en este aspecto, se han obtenido en otros países como Brasil, Dobereiner (1968,1975,1976).

Por los resultados expuestos en el cuadro 4, es importante hacer notar que, en la rizosfera de las cuatro gramíneas estudiadas, se apreció un efecto estimulante hacia estos microorganismos. La mayor densidad de población de estos microorganismos varió de 806,931/g con un R:S de 20.5; y la menor de 140,032 con un R:S de 9.1, en las rizosferas de Sporobolus sp y de Panicum fasciculatum, respectivamente.

Sin embargo, la planta que más estimuló a estos microorganismos fué Hyparrhenia rufa, con una población rizosférica de 220,268/g, en comparación con 2,837/g en el suelo -

no rizosférico, lo cual dió un valor R:S 77.6.

### 3.3.- Microorganismos del ciclo del carbono y azufre.

En el cuadro 5 se puede observar que, a excepción - de la rizosfera de Panicum fasciculatum, se presentó en la - rizosfera de las tres gramíneas restantes, un efecto de rizos- fera positivo, tanto hacia los microorganismos celulolíticos como reductores de sulfatos.

En el caso de los microorganismos celulolíticos, la mayor población rizosférica fué de 11,315/g con un R:S de 5.5, y la menor de 5,921/g con un R:S de 19.5, valores que corres- ponden a Sporobolus sp y a Hyparrhenia rufa, respectivamente. Al observar los valores R:S, se aprecia que con esta última - planta se obtuvo la mayor estimulación hacia este grupo de mi- croorganismos.

La población de microorganismos reductores de sul- fatos a nivel de la rizosfera, fluctuó entre 8,290/g con un - R:S de 1.9 y 27,910 con un R:S de 6.3, estos valores corres- ponden a las rizosferas de Hyparrhenia rufa y Setaria genicu- lata, siendo evidente que esta gramínea fué la que estimuló, - en mayor grado, a la flora sulfato reductora. Con Panicum fasci- culatum, el efecto rizosférico resultó negativo, tanto para - los microorganismos celulolíticos como para los reductores de sulfatos, es decir, la densidad de población rizosférica re- sultó menor a la del suelo alejado de la raíz.

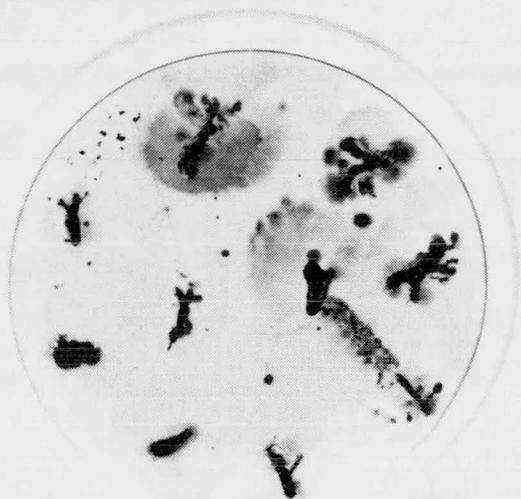
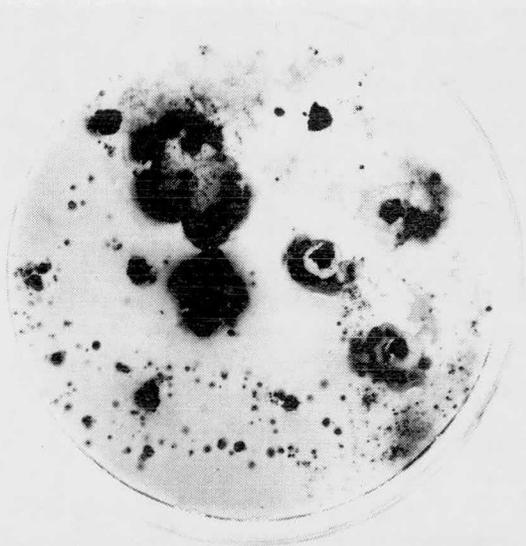


Fig.1. Placa conteniendo el medio Lipman libre de nitrógeno, en la que se observa el abundante desarrollo bacteriano de la rizoplasma, en torno a fragmentos de raíces lavadas de Setaria geniculata.

Fig.2. Se observa crecimiento bacteriano mucoso alrededor de terrones -- procedentes de la rizosfera de Hyparrhenia rufa, en placa con el medio -- Lipman libre de nitrógeno.



CUADRO N° 1 ALGUNAS PROPIEDADES FISICAS DE LOS SUELOS

SUELOS	PROFUNDIDAD en cm	COLOR SECO	CLAVE	COLOR HUMEDO	CLAVE	D.A	D.R.	% ARENA	% LIMO	% ARCILLA	TEXTURA
SITIO 1	0 - 20 cm	Negro	5 Y 2/1	Negro	5 YR 1.7/1	1.12	2.50	50	14	36	Arcillo arenoso
	20 - 40 cm	Negro parduzco	2.5 Y 3/1	Negro parduzco	5 YR 2/1	1.15	2.38	32	8	60	Arcilla
SITIO 2	0 - 20 cm	Café oscuro	10 YR 3/3	Negro parduzco	7.5 YR 3/1	1.10	2.50	32	36	32	Migajón arcilloso
SITIO 3	0 - 60 cm	Café	7.5 YR 3/3	Negro parduzco	7.5 YR 3/2	0.93	2.63	36	27	37	Migajón arcilloso
	60 - 80 cm	Café muy oscuro	7.5 YR 2/1	Negro	7.5 YR 2/1	1.10	2.50	34	27	39	Migajón arcilloso
	80 - 140 cm	Café claro	7.5 YR 5/6	Café	7.5 YR 3/3	1.00	2.63	14	34	52	Arcilla
	140 - 164 cm	Café ama- rillento claro	10 YR 6/6	Café	7.5 YR 4/6	0.83	2.63	32	52	16	Migajón limoso
	164 - 174	Café ama- rillento	10 YR 5/6	Café oscuro	7.5 YR 3/4	1.02	2.43	20	35	45	Arcilla
	174 - 184	Amarillo: pálido	2.5 YR 8/3	Café	10 YR 4/6	1.05	2.63	46	46	8	Franco

CUADRO N° 2 ALGUNAS PROPIEDADES QUIMICAS DE LOS SUELOS

SUELOS	PROFUNDIDAD en cm.	pH RELACION 1: 2.5		C.I.C.T. meq/100g	CATIONES SOLUBLES		CATIONES		FOSFORO Kg/Ha	MATERIA ORGANICA %	NITROGENO TOTAL %	RELACION C/N
		en H <sub>2</sub> O	en KCl		meq/l		INTERCAMBIABLES meq / 100g					
					Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+</sup>	Mg <sup>+</sup>				
SITIO 1	0 - 20 cm	5.6	5.3	32	0.97	0.17	13	11	3.0	6.78	0.33	11.8
	20 - 40 cm	5.8	5.7	50	2.91	0.25	15	21	1.4	4.71	0.15	18.8
SITIO 2	0 - 20 cm	5.7	5.6	36	1.03	0.95	22	10	50.4	4.71	0.17	15.7
SITIO 3	0 - 60 cm	5.8	5.4	40	0.43	1.23	14	13	13.0	6.73	0.23	16.8
	60 - 80 cm	5.8	5.5	34	0.49	0.15	15	14	3.7	7.27	0.12	36.3
	80 - 140 cm	5.6	5.1	40	0.69	0.12	17	16	6.3	2.35	0.17	7.8
	140 - 164 cm	6.1	5.1	33	0.64	0.06	18	15	8.4	1.48	0.15	5.9
	164 - 174 cm	5.7	5.2	30	0.34	0.11	11	18	7.4	2.49	0.12	12.4
	174 - 184 cm	5.6	5.0	34	1.16	0.38	15	16	3.9	0.60	0.09	4.0

CUADRO N° 3.- ESTIMACION DE LA MICROFLORA TOTAL  
 NUMERO DE MICROORGANISMOS POR GRAMO DE SUELO Y RAIZ SECOS

SUELO	PROFUNDIDAD	BACTERIAS	RELACION R:S	ACTINOMICETOS	RELACION R:S	HONGOS	RELACION R:S
SITIO 1	RIZOSFERA A	2,119,532,723	9910	495,257,151	2557	245,812	90.4
	RIZOSFERA B	50,530,057,050	2363/10 <sup>2</sup>	8,162,547,678	42/10 <sup>3</sup>	734,629	270.3
	0 - 20 cm.	213,834		193,708		2,717	
	20 - 40 cm.	205,763		33,670		2,175	
SITIO 2	RIZOSFERA C	1,321,556,664	7472	52,512,000	105	149,222	18.3
	0 - 20 cm.	1,768,576		497,556		8,112	
SITIO 3	RIZOSFERA D	105,634,052	208	13,737,164	95	31,264	-
	0 - 60 cm.	506,740		186,690		109,106	
	60 - 80 cm.	487,566		113,444		2,052	
	80 - 140 cm.	454,172		46,750		214	

RIZOSFERA A.- Setaria geniculata (Lam) Beauv

RIZOSFERA B.- Sporobolus sp.

RIZOSFERA C.- Panicum fasciculatum Swartz

RIZOSFERA D.- Hyparrhenia rufa (Ness) Staph "Zacate jaragua"

CUADRO N° 4.- ESTIMACION DE LOS MICROORGANISMOS DEL CICLO DEL NITROGENO  
 NMP (NUMERO MAS PROBABLE) DE MICROORGANISMOS POR GRAM DE SUELO Y RAIZ SECOS.

SUELO	PROFUNDIDAD	AMONIFICANTES	RELACION R+S	N I T R I F I C A N T E S				DESINITRIFICANTES R+S	RELACION R+S	PLAJADORES LIBRES DE NITROGENO	RELACION R+S
				<u>Nitrosomonas</u> sp	R+S	<u>Nitrobacter</u> sp	R+S				
SITIO 1	RIZOSFERA A	17,838,000,000	1289/10 <sup>2</sup>	930	930	25	25	8,142	38	600,452	15.3
	RIZOSFERA B	29,096,100,000	2102/10 <sup>2</sup>	93	93	27	27	84,055,000	39270	806,931	20.5
	0 - 20 cm.	138,363		1		1		214		39,245	
	20- 40 cm	23,850		1		1		701		10,718	
SITIO 2	RIZOSFERA C	24,615,100	83.5	93	-	27	-	273,500	13.6	140,032	9.1
	0 - 20 cm	294,760		943		35		2,004		15,327	
SITIO 3	RIZOSFERA D	106,581,000	2511/10 <sup>2</sup>	40	-	0	-	1,658	1.1	220,268	77.6
	0 --60 cm	42,430		6,061		0		1,576		2,837	
	60- 80 cm	6,034		60		0		205		1,496	
	80-140 cm	4,007		7		0		47		1,255	

CUADRO No. 5  
 ESTIMACION DE LOS MICROORGANISMOS DEL CICLO  
 DEL CARBONO Y DEL AZUFRE.  
 NMP (NUMERO MAS PROBABLE) DE MICROORGANISMOS POR GRAMO  
 DE SUELO Y RAIZ SECOS.

SITIO	PROFUNDIDAD	CELULOLITICOS AEROBIOS	RELACION R: S	REDUCTORES DE SULFATOS	RELACION R: S
SITIO 1	RIZOSFERA A	9,305	4.6	27,910	6.3
	RIZOSFERA B	11,315	5.5	9,052	2.0
	0 - 20 cm.	2,021		4,402	
	20 - 40 cm.	281		42	
SITIO 2	RIZOSFERA C	191,451	-	766	-
	0 - 20 cm.	530,570		943	
SITIO 3	RIZOSFERA D	5,921	19.5	8,290	1.9
	0 - 60 cm.	303		4,243	
	60 - 80 cm.	168		84	
	80 -140 cm.	33		60	

RIZOSFERA A.- Setaria geniculata (Lam) Beauv.

RIZOSFERA B.- Sporobolus sp

RIZOSFERA C.- Panicum fasciculatum (Swartz)

RIZOSFERA D.- Hyparrhenia rufa (Ness) Staph "Zacate jaragua"

## V RESUMEN

El presente estudio corresponde a suelos de pradera localizados en las inmediaciones de los poblados de Palma -- Sola y Tinajitas, en la costa central del Estado de Veracruz.

Se presentan los datos sobre la cuantificación de - la microflora total y de los microorganismos de los ciclos - del nitrógeno, carbono y azufre; tanto del suelo como de la - rizosfera de: Setaria geniculata, Sporobolus sp, Panicum --- fasciculatum e Hyparrhenia rufa; en correlación con algunas - propiedades físicas y químicas de los suelos.

Los suelos se caracterizaron por tener colores obs- curos en las capas superiores (negro a parduzco), y colores - claros en las capas profundas. Texturas finas y medianamente finas (arcillas y migajón arcilloso). Reacción ácida (pH en- tre 5.1 y 6.1 en agua). Valores altos de capacidad de inter- cambio catiónico total (entre 30 y 50 meq/100 g).

En todos los suelos el Na y K, solubles, y el Ca y Mg, intercambiables, dieron valores bajos.

En la mayoría de los suelos el fósforo asimilable - se detectó en niveles bajos (1.4 a 13.0 kg/ha). La materia -- orgánica se estimó en valores que van de altos a bajos (6.78 a 0.60), disminuyendo en función a la profundidad. Los porcen- tajes de nitrógeno total variaron de medios a altos (0.12 a - 0.33) y la relación carbono - nitrógeno de baja a media.

En los tres sitios de estudio la microflora total - del suelo resultó baja ( de  $22 \times 10^5$  a  $24 \times 10^4$ ). La máxima - población correspondió a las bacterias, siguiendo en orden -- decreciente los actinomicetos y, finalmente, los hongos. Del ciclo del nitrógeno se estimó, en orden de abundancia, en pri- mer lugar a los amonificantes (  $4 \times 10^3$  a  $13 \times 10^4$ ), desnitrifi- cantes (  $47$  a  $15 \times 10^2$ ), fijadores libres de nitrógeno ( 1

$\times 10^3$  a  $39 \times 10^3$ ), Nitrosomonas sp (de 1 a  $6 \times 10^3$ ) y Nitro - bacter sp ( de 0 a 35). Dentro de los ciclos del carbono y -- azufre, los celulolíticos (de  $33$  a  $53 \times 10^4$ ), fueron más abundantes que los reductores de sulfatos ( de  $42$  a  $4 \times 10^3$ ).

En términos generales, las cuatro gramíneas estudiadas produjeron un efecto de rizosfera positivo. La microflora total rizosférica fluctuó entre  $11 \times 10^7$  y  $58 \times 10^9$ . Del ciclo del nitrógeno se estimó en orden de abundancia, a los amonificantes ( de  $24 \times 10^6$  a  $29 \times 10^9$ ), desnitrificantes (  $16 - \times 10^2$  a  $84 \times 10^6$ ), fijadores libres de nitrógeno ( de  $14 \times 10^2$  a  $80 \times 10^4$ ), Nitrosomonas sp (de 40 a  $9 \times 10^2$ ) y Nitrobacter sp ( de 0 a 27). Dentro de los ciclos del carbono y azufre, - los celulolíticos (de  $5 \times 10^3$  a  $19 \times 10^4$ ) fueron más abundantes que los reductores de sulfatos ( de  $7 \times 10^2$  a  $27 \times 10^3$ ).

Sporobolus sp produjo el máximo efecto estimulante en la microflora total, amonificante y desnitrificante.

El máximo efecto de rizosfera en fijadores libres - de nitrógeno, celulolíticos y reductores de sulfatos, se obtuvo con Hyparrhenia rufa, Panicum fasciculatum y Setaria geniculata, respectivamente.

## VI BIBLIOGRAFIA

- Alexander, M., 1961, Introduction to Soil Microbiology. John Wiley & Sons, Inc. New York and London, 242 p.
- Bailey, L.D., 1976, Effects of temperature and root on denitrification in a soil. Can.J.Soil. 56: p. 79-87.
- Barkworth & Bateson, M., 1965, The population level of presun-  
tive Nitrosomonas y Nitrobacter in some English --  
soils. Plant and Soil, v.22, p. 220 - 228.
- Bezerra, C. A., & Bezerra, De O.L., 1969, Ocurrence e Dis-  
tribuição em profundidade de Azotobacter e Beije-  
rinckia em alguns perfis de solo da zona Úmida de  
Pernambuco. Pesq. Agropec. Bras. 4: p. 47 - 52.
- Bouyoucos, G.L., 1963, Directions of making mechanical analy-  
sis of soil by hydrometer method. Soil. Sci. 42:  
p. 25 - 30.
- Brown, M.E., 1976, Role of Azotobacter paspali in association  
with Paspalum notatum. J. Appl. Bact., 40, 341-348.
- Bunt, J.S., & Rovira, A.D., 1955, Microbial studies of some -  
subantartic soil. Jour. Soil. Sci. 6: p. 129 - 136.
- Burgues, A. & Raw., 1971, Biología del suelo. Aspectos micro-  
biológico, botánico y zoológico., Ed. Omega. S.A.  
Barcelona, 596 p.
- Campbell, R., y Rovira, A.D., 1973, The study of the rhizos-  
phere by Scanning electron microscopy. Soil. Biol.  
Biochem. v.5, p. 747 - 752.
- Carson, E.W., 1974, The plant root and its Environment. The -  
University Press of Virginia. 690 p.
- Coutinho, W.M., y Dobereiner, J. 1969, Estudos complementares  
sobre a fisiologia de Azotobacter paspali e sua --  
dependencia de planta. (Paspalum notatum). Pesq.  
Agropec. Bras. 4: p. 53 - 58.

- Day, J.M., Neves, M.C.P. & Dobereiner, J. 1975, Nitrogenase activity on the roots of tropical forage grasses: -- Soil. Biol. Biochem. v.7, p. 107 - 112.
- Day, J.M., & Dobereiner, J., 1976. Physiological aspects of - N<sub>2</sub> Fixation by a Spirillum from Digitaria roots: -- Soil. Biol. Biochem., v.8, p. 45 - 50.
- Demant, A. y Robin, C., 1975, Las fases del vulcanismo en México: Una síntesis en relación con la evolución geodinámica desde el Cretácico: Revista Inst. Geol. -- U.N.A.M., 75 (1), p. 70 - 83.
- Dobereiner, J., 1966, Azotobacter paspali sp.n., Una bacteria fijadora de nitrógeno en la rizosfera de Paspalum: -- Pesq. Agropec. Bras. 1; p. 357 - 365.
- Dobereiner, J., 1968, Non symbiotic Nitrogen Fixation in tropical soils, Pesq. Agropec. Bras. 3; p. 1 - 6.
- Dobereiner, J. & Campelo, A.B., 1971, Non symbiotic nitrogen-fixing bacteria in Tropical soils: Plant and Soil, Special Volume. p. 457 - 70.
- Dobereiner, J., Day, J.M. & Dart, P.J., 1973, Fixação de Nitrogênio na rizosfera de Paspalum notatum e da Cana-de-açúcar. Pesq. Agropec. Bras. Ser. Agronm., 8: 153-157.
- Dommergues, Y., & Manganot, F., 1970, Ecologie Microbienne du sol. Masson et. Cie., Editeurs, Paris 790 p.
- Dubos, R.J., 1928, The decomposition of cellulose by aerobic bacteria; J. Bacteriol. 15 : p. 223 - 234.
- Fassbender, H.W., 1975, Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Ed. IICA. 1a. Ed. Turrialba Costa Rica, 398 p.
- García, W., 1973, Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen, ( para adaptarla a las condiciones de la Rep. Mexicana): U.N.A.M., Mex, 246 p.

- Garassini, L.A., 1967, Microbiología Agraria : Univ. Central de Venezuela, 646 p.
- Gray, T.R.G. y Williams, S.T., 1971, Soil Microorganisms. Hafner Publishing Company Inc. New York.
- Jackson, M.L., 1964, Analisis Químico de suelos. Ed. Omega, S. D. Barcelona España 650 p.
- Katznelson, H., 1946, The rhizosphere effect of mangels en -- certain group of soil microorganisms; Soil.Sci. 62: 343 - 354.
- Koch, B.L. & Oya, J. 1974, Non-Symbiotic nitrogen fixation in some Hawaiian pasture soils; Soil.Biol. Biochem., - v. 6, p. 153.
- Lipman, C.B., The distribution and activity of bacteria in -- soil of arid regions. Univ. of Calif. Public. Agr. Sci. 1. Citado por Rubenchik, L.I. Azotobacter and its use in agriculture Jerusalem. Israel Program -- for Scientific Translations, 1963.
- Loran, N.B., 1976, Algunos estudios de suelos derivados de -- cenizas volcánicas del Transecto Jalapa-Teocelo, -- Veracruz.México, Tesis. Biólogo. Fac. Ciencias. --- U.N.A.M.
- Martin, J.P., 1950, Use of Rose Bengal and Streptomycin in -- the plate method for estimating soil fungi; Soil. Sci. 69 : p. 215 - 233.
- Mc. Crady, P.W., 1946, Standard Methods of Water Analysis. Am. Pub. Health and Am. Water. Wks. Assoc. 9 th.ed. p. 131 - 138.
- Mishustin, E.N. & Shil'nikova, V.K., 1971, Biological Fixation Atmospheric Nitrogen. The Mac. Millan. Press Limited Ed. 420 p.
- Morales, M.M., 1977, Estudio microbiológico de la rizosfera de la caña de azúcar, con énfasis en las bacterias, -

aerobias libres, fijadoras de nitrógeno, México, --  
Tesis. Químico Farmacéutico Biólogo. Fac. Química. -  
U.N.A.M.

- Munsell Soil Color Chart 1954, Edition Munsell Color Co. Inc.  
Baltimore, 2 Maryland, U.S.A.
- Myers, R.J.K., 1975, Temperature effects on amonification and  
nitrification in a tropical soils: Soil.Biol. Biochem.  
v.7, p. 83 - 86.
- Neal, J.L.Jr., Atkinson y Ruby, I.L., 1970, Changes in the --  
rhizosphere microflora spring wheat induced by the  
disonic substitution of a chromosome: Can.J.Micro--  
biol. v.16, p. 153.
- Odu, J.C.T., & Akarele, R.B., 1973, Effects of soil grass and  
legume root extracts on heterotrophic bacteria nitro-  
gen mineralization and nitrification in soil: Soil.  
Biol. Biochem. v.5, p. 861 - 867.
- Old, K.M., y Nicolson, T.H., 1975, Electron microscopical stu-  
dies of the microflora of roots of sand dune grasses:  
New. Phytol. 74, p. 51 - 58.
- Parkinson, D. & Thomas, A., 1969, Quantitative study of fungi  
in the rhizosphere : Can. J. Microbiol. v. 15, p.875.
- Peña, J.J. & Dobereiner, J., 1974, Efecto del nitrato y amonio  
en la actividad de la nitrogenasa de bacterias tro-  
picales fijadoras de nitrógeno atmosférico: Rev.Lat.  
Amer. Microbiol., 16, p. 33 - 44.
- Rovira, A.D., Newman, E.I., Bowen, H.J. & Campbell, R., 1974,  
Quantitative assesment of the rizoplane microflora  
by direct microscopy: Soil. Biol. Biochem. v.6, p. -  
211 - 216.
- Stewart, W.D.P. ed. Nitrogen fixation by free - living micro-  
organisms. International Biological Programme 1975,  
Cambridge. London, 471 p.

- Timonin, M.J., 1945, Microflora of the rhizosphere in relation to manganese deficiency disease of oats, Soil. Sci. Soc. Amer. Proc. v.II, p. 284 - 292.
- Thompson, L.M., 1965, El suelo y su fertilidad, Ed. Reverté, S.A. Barcelona / Buenos Aires, México. Trad. 3a.Ed. 650 p.
- Torres, O.I., 1976, Algunos estudios de suelos derivados de cenizas volcánicas del Transecto Teziutlan - Puebla a Jalapa, Veracruz. México. Tesis, Biólogo. Fac. -- Ciencias. U.N.A.M.
- Town, P.G. & White, G.L., 1976, Non-Symbiotic nitrogen fixation in the rhizosphere of Digitaria smutzii stert. Plant and Soil. v.45, p. 637 - 646.
- Tjepkema, J.D. & Burris, R.H., 1976, Nitrogenase activity associated with some Wisconsin Prairie grasses. Plant and Soil. v.45, p. 81 - 94.
- Walker, N. ed. 1975, Soil Microbiology. A. Halsted Press Book A division of John Wiley & Sons, Inc. New York, U. S.A. 262 p.