



Agrocienza

Colegio de Postgraduados

Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas

agrocien@colpos.colpos.mx

ISSN: 1405-3195

MÉXICO

2004

José D. Álvarez Solís / Manuel de J. Anzueto Martínez

ACTIVIDAD MICROBIANA DEL SUELO BAJO DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE MAÍZ

EN LOS ALTOS DE CHIAPAS, MÉXICO

Agrocienza, enero-febrero, año/vol. 38, número 001

Colegio de Postgraduados

Texcoco, México

pp. 13-22

ACTIVIDAD MICROBIANA DEL SUELO BAJO DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE MAÍZ EN LOS ALTOS DE CHIAPAS, MÉXICO

SOIL MICROBIAL ACTIVITY UNDER DIFFERENT CORN CROPPING SYSTEMS IN THE HIGHLANDS OF CHIAPAS, MÉXICO

José D. Álvarez-Solís y Manuel de J. Anzueto-Martínez

Departamento de Agroecología. División de Sistemas de Producción Alternativos. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Apartado Postal 63. San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. (dalvarez@scl.ecosur.mx)

RESUMEN

El uso agrícola de la tierra en Los Altos de Chiapas intensifica los problemas de fertilidad del suelo y el uso de fertilizantes para mantener la producción de maíz. La comprensión de los factores que regulan la actividad microbiana es de interés debido a la importancia que ésta tiene en el mantenimiento de la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas. El efecto de la intensificación agrícola sobre el número de microorganismos, la respiración microbiana, la mineralización del C orgánico y el potencial de inóculo micorrízico y de fijación biológica del N₂, así como la relación de estos indicadores de la actividad microbiana con las características de la fertilidad del suelo fueron objeto de análisis en dos localidades de Chamula, Chiapas. Se utilizaron muestras compuestas de suelo recolectadas en 52 parcelas clasificadas con base en el historial de manejo en cuatro sistemas de producción de maíz: barbecho largo, barbecho corto, rotación pastizal-cultivo y cultivo anual continuo. La respiración microbiana fue 38% menor en parcelas con maíz bajo cultivo anual continuo o con la rotación pastizal-cultivo, que en aquellas con barbecho largo o corto, indistintamente de su condición de cultivadas con maíz o de estar en barbecho (acahuales arbóreo y arbustivo). La mineralización del C orgánico fue 31 y 43% menor en parcelas con maíz bajo cultivo anual continuo y de aquellas con rotación pastizal-cultivo, que en las cultivadas con maíz en los sistemas de barbecho largo o corto. La colonización micorrízica de maíz fue 3.1 veces más alta en suelos del pastizal, que en los cultivados con maíz con barbecho largo. La disminución de la actividad microbiana se relacionó con la declinación de las reservas orgánicas, el aumento de acidez y la disminución de cationes básicos del suelo. Estos resultados indican la importancia de la adición periódica de enmiendas orgánicas y minerales que restituyan las reservas orgánicas y cationes básicos para mejorar la actividad microbiana heterotrófica en suelos ácidos con uso agrícola intensivo. Así mismo, los resultados sugieren la importancia que tiene el pastizal para mantener el potencial de inóculo micorrízico del suelo.

Palabras clave: *Zea mays*, fertilidad del suelo, respiración microbiana, uso del suelo.

Recibido: Abril, 2003. Aprobado: Diciembre, 2003.
Publicado como ENSAYO en *Agrociencia* 38: 13-22. 2004.

ABSTRACT

Agricultural land use in the Highlands of Chiapas intensifies the problems of soil fertility and use of fertilizers to sustain corn production. The comprehension of the factors that regulate microbial activity is of interest due to the importance that has in the maintenance of soil fertility and plant nutrition. The effect of agricultural intensification on the number of microorganisms, microbial respiration, organic C mineralization, mycorrhizal inoculum potential and biological N₂ fixation, and the relationships of those microbial activity indicators with soil fertility characteristics was analyzed in two localities of Chamula, Chiapas. Composite soil samples were collected in 52 plots that were classified in four corn cropping systems based on the land use history: long fallow, short fallow, pasture-cultivation rotation and annual continuous cultivation. Microbial respiration was 38% lower in plots with corn under annual continuous cultivation or pasture-cultivation rotation than in long or short fallow, irrespective of their condition in cultivation (corn) or fallow (tree and shrub vegetation). Organic C mineralization was 31 and 43% lower in plots with corn under annual continuous cultivation and pasture-cultivation rotation than in cultivated plots of the long or short fallow, respectively. Mycorrhizal colonization of corn was 3.1 times higher in grassland than in cultivated soils from long fallow. The decrease of microbial respiration was related to the decline of soil organic reserves, the increase in soil acidity and the decrease of basic cations. These results indicate the importance of the periodic addition of organic and mineral amendments that should return the soil organic reserves and basic cations to improve heterotrophic microbial activity in these acid soils with intensive agricultural use. Also, results suggest the importance of grassland to maintain mycorrhizal inoculum potential of soil.

Key words: *Zea mays*, soil fertility, microbial respiration, land use.

INTRODUCTION

In the mountainous region of southeast México, known as the Highlands of Chiapas, small farmers have very limited land an capital with which to realize their agricultural, livestock and forestry activities, which results in small landholdings and extreme poverty (Parra and

INTRODUCCIÓN

En la región montañosa del sureste de México conocida como Los Altos de Chiapas, los campesinos realizan sus actividades agrícolas, pecuarias y forestales con muy baja disponibilidad de tierras y capital, lo que resulta en minifundio y pobreza extrema (Parra y Díaz, 1997). En esta región, constituida por 15 municipios que abarcan una superficie de 2413 km², el uso agrícola de la tierra se intensifica (Díaz *et al.*, 1999). El sistema de producción de maíz basado en el barbecho largo se ha transformado en sistemas con barbecho progresivamente más corto y en el cultivo anual continuo (Alemán, 1989; Alemán y López, 1989). La intensificación del uso agrícola de la tierra ha modificado algunas características de la fertilidad nativa del suelo, principalmente ha causado a la disminución de materia orgánica, N total y cationes básicos intercambiables, así como el incremento de la concentración de P disponible para las plantas en el suelo debido a la aplicación frecuente de fertilizantes (Álvarez-Solís *et al.*, 1998). La aplicación de fertilizantes de origen industrial tiene un alto costo para el campesino, y es incosteable por la baja rentabilidad que las inversiones de capital tienen en la agricultura de ladera (Pool-Novelo *et al.*, 2000). Por lo anterior, es importante comprender el efecto que tiene la intensificación del uso agrícola de la tierra en los procesos naturales que intervienen en el mantenimiento de la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas.

La actividad microbiana es importante para mantener la fertilidad del suelo y en la nutrición de las plantas. Los microorganismos del suelo conducen la biodegradación de la materia orgánica y constituyen un importante reservorio lábil de C, N y P (Díaz-Raviña *et al.*, 1993). Algunos microorganismos son capaces de establecer simbiosis mutualista con las plantas, tales como las rizobacterias promotoras del crecimiento del género *Azospirillum* que fijan el nitrógeno atmosférico en la endorrizosfera de gramíneas (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000), y otros, como las micorrizas arbusculares que colonizan las raíces de las plantas, forman una extensa red de micelio en el suelo y mejoran la capacidad de éstas para aprovechar el agua y los nutrimentos (Smith y Read, 1997). El interés agronómico en la actividad microbiana se debe a su potencial para reciclar los nutrimentos, mejorar la nutrición de las plantas y disminuir o sustituir la aplicación de fertilizantes de origen industrial (Alarcón *et al.*, 2002; Velasco *et al.*, 2001).

La actividad microbiana es regulada por las características físicas y químicas del suelo, por la composición de los materiales orgánicos y por la naturaleza de la comunidad microbiana (Alexander, 1980; Álvarez-Solís y León-Martínez, 1997). Estos factores varían con los cambios en el uso de la tierra (Palm *et al.*, 1996) y con la fertilidad del suelo (Verstraete y Voets, 1977). Para un

Díaz, 1997). In this region, made up of 15 municipalities with a land area of 2413 km², agricultural land use is intensified (Díaz *et al.*, 1999). Corn cropping systems based on long fallow have been transformed into increasingly shorter fallows and in annual continuous cultivation (Alemán, 1989; Alemán y López, 1989). The intensification of agriculture has modified some characteristics of the native soil fertility characteristics; mainly causing a reduction in organic matter, total N and basic interchangeable cations, as well as an increase in the concentration of available P for plants in the soil, due to the frequent application of fertilizers (Álvarez-Solís *et al.*, 1998). The application of industrial fertilizers is expensive for small farmers; they cannot afford it because of the low yield that the investments of capital have on the slope agriculture (Pool-Novelo *et al.*, 2000). Because of this it is important to understand the effect that the agricultural land use intensification has on the natural processes that help to maintain the soil fertility and plant nutrition.

Microbial activity is important for maintaining soil fertility and for plant nutrition. Soil microorganisms drive biodegradation of organic matter and constitute an important labile reservoir of C, N and P (Díaz-Raviña *et al.*, 1993). Some microorganisms are able to establish mutualistic symbiosis with the plants, such as the plant growth promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum* that fixes atmospheric nitrogen in the endo-rhizosphere of gramineae (Steenhoudt and Vanderleyden, 2000), and others, including arbuscular mycorrhizae that colonize plant roots, forming an extensive network of mycelia in the soil and improving the plants capacity to take up water and nutrients (Smith and Read, 1997). Agronomists' interest in microbial activity is due to their potential to recycle nutrients, improve plant nutrition, and reduce or substitute for the application of industrial fertilizers (Alarcón *et al.*, 2002; Velasco *et al.*, 2001).

Microbial activity is regulated by the physical and chemical characteristics of the soil, by the composition of the organic materials, and by the nature of the microbial community (Alexander, 1980; Álvarez-Solís and León-Martínez, 1997). These factors vary with land use changes (Palm *et al.*, 1996) and with soil fertility (Verstraete and Voets, 1977). To better take advantage of the biological interactions in the soil it is important to understand the responses of microbial populations to changes in land use, and the edaphic factors that influence their activity. In this research it was analyzed the effect of agricultural intensification on microbial activity and the relationship between microbial activity and some soil fertility characteristics.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out in the localities of Tzetelón and Bautista Chico in the municipality of Chamula, Chiapas, inhabited by Tzotzils

mejor aprovechamiento de las interacciones biológicas en el suelo es importante conocer la respuesta de las poblaciones microbianas a los cambios en el uso de la tierra y los factores edáficos que influyen en su actividad. En este trabajo se analizó el efecto de la intensificación agrícola en la actividad microbiana y la relación de esta última con algunas características de la fertilidad del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las localidades de Tzeteltón y Bautista Chico del municipio de Chamula, Chiapas, habitadas por población indígena tzotzil (Figura 1). La producción agrícola se realiza bajo sistemas anuales, de año y vez, y de roza-quema, donde el maíz es el cultivo principal y se utilizan abonos orgánicos, fertilizantes y herbicidas (Alemán y López, 1989; Alemán, 1989). Ambas localidades se ubican en el sistema terrestre Carst-Chamula que tiene una superficie de 1225 Km² (Mera, 1989). Los suelos se han formado sobre calizas del Cretácico Superior que subyacen a la influencia de material ígneo extrusivo (cenizas volcánicas) del Terciario, y corresponden a Acrisoles húmicos, Luvisoles crómicos y Rendzinas (INEGI, 1985). El clima es templado subhúmedo (C(w2)w) con temperatura media anual de 11 a 16 °C y precipitación media anual de 1100 a 1300 mm, con lluvias en verano y época seca de noviembre a mayo (García, 1988). La vegetación dominante es bosque de pino-encino (*Pinus-Quercus*) que se alterna en complejos mosaicos sucesionales con acahuales, pastizales y campos de cultivo (González-Espinosa *et al.*, 1991).

Con la colaboración de siete productores se seleccionaron 26 parcelas en cada localidad. El tamaño promedio de las parcelas fue de 2500 m² en Tzeteltón y 1250 m² en Bautista Chico. Las parcelas se clasificaron en cuatro sistemas de producción: barbecho largo, barbecho corto, año y vez, y cultivo anual continuo, con base en el historial de manejo informado por el productor y por la cobertura vegetal actual (Cuadro 1). En los sistemas de producción con descanso de la tierra se incluyeron tanto las parcelas que en ese momento estaban en

inhabitantes (Figure 1). Agricultural production is realized under annual agricultural systems, pasture-cultivation rotation, and slash and burn, in which corn is the main crop, and organic manures, chemical fertilizers and herbicides are used (Alemán and López, 1989; Alemán, 1989). Both localities are located in the Karst-Chamula land system, which has a land area of 1225 km² (Mera, 1989). The soils have been developed on limestone from the Cretaceous Superior period, that underlie the influence of extrusive igneous materials (volcanic ash) from the Tertiary, and correspond to humic Acrisols, chromic Luvisols and Rendzinas (INEGI, 1985). The climate is temperate subhumid (C(w2)w), average annual temperature is between 11 and 16 °C, and average annual precipitation is between 1100 and 1300 mm, with summer rains and a dry season from November to May (García, 1988). The predominant vegetation is pine-oak forest (*Pinus-Quercus*) alternated in complex successional mosaics with fallows, pastures and agricultural fields (González-Espinosa *et al.*, 1991).

With the collaboration of seven farmers, 26 plots were selected in each locality. The average plots size was 2500 m² in Tzeteltón and 1250 m² in Bautista Chico. Plots were classified in four corn cropping systems: long fallow, short fallow, pasture-cultivation rotation, and continuous annual cultivation, based on the land use history informed by the farmers, and by the current vegetation cover (Table 1). In the production systems plots under cultivation and those which were in fallow were both included. Plots with forested fallow and the cultivated plots that came from this condition were included in the long fallow system, even when in the first ones there was no evidence of previous cultivation, and for the second it is unlikely that they are left in fallow after the period of cultivation until they reach a forest state, due to the current demand for land.

In each plot, a composite soil sample was collected, made up of 20 sub-samples obtained using a systematic aligned sampling method, at a depth of 20 cm. A portion of the composite soil sample was conserved in refrigeration at 4 °C and was utilized in the microbial analysis. Another portion was air-dried, sieved, and used in the physical and chemical analyses. The remaining soil was used in a bioassay in the greenhouse.

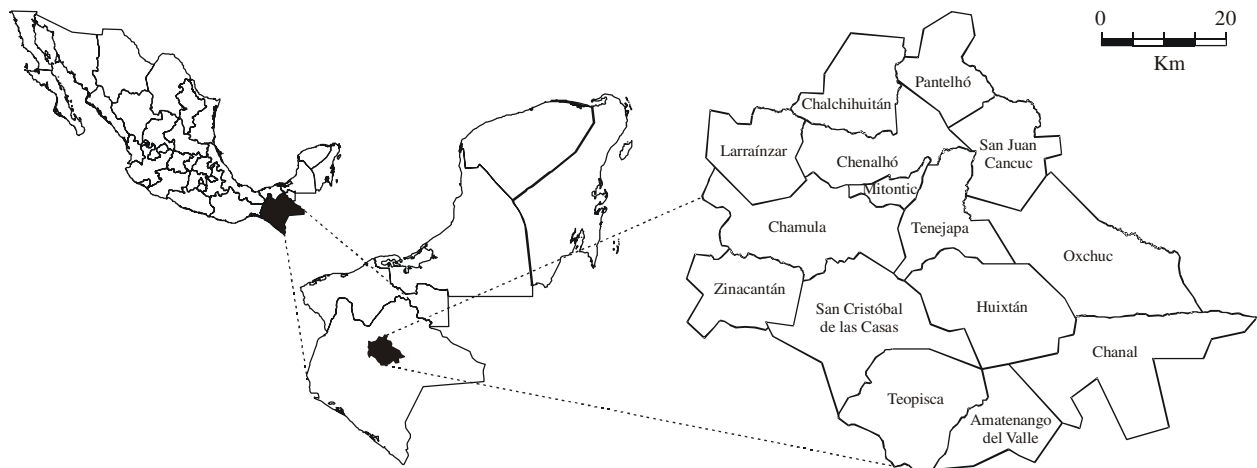


Figura 1. Localización del municipio de Chamula en la región Altos de Chiapas, México.
Figure 1. Localization of the municipality of Chamula in the highlands of Chiapas, México.

Cuadro 1. Parcelas incluidas en los sistemas de producción de maíz en Chamula, Chiapas.
Table 1. Plots included in the corn cropping systems in Chamula, Chiapas.

Localidad/sistema de producción	Uso actual	Barbecho (años)	Cultivo (años)	Parcelas (número)
Tzeteltón / barbecho largo	acahual arbóreo	> 30		5
	maíz		1 – 2	4
Tzeteltón / año y vez	pastizal	>1 < 4		4
	maíz		1 – 4	6
Tzeteltón / anual continuo	maíz		6 – 30	7
Bautista Chico / barbecho corto	acahual arbustivo	> 4 < 10		4
	maíz		1 – 5	6
Bautista Chico / año y vez	pastizal	>1 < 4		5
	maíz		1 – 4	5
Bautista Chico / anual continuo	maíz		6 – 30	6

barbecho como aquellas que se encontraban en cultivo. Las parcelas con acahual arbóreo y las cultivadas que provinieron de esa condición fueron incluidas en el sistema de barbecho largo, aun cuando en las primeras no hubo evidencias de cultivo previo y para las segundas es difícil suponer que se dejen en barbecho después del periodo de cultivo hasta alcanzar una condición arbórea, debido a la presión sobre la tierra que existe actualmente.

En cada parcela se recolectó una muestra compuesta de suelo que estuvo integrada por 20 submuestras simples obtenidas mediante un muestreo sistemático alineado, a una profundidad de 20 cm. Una porción de la muestra compuesta de suelo se conservó en refrigeración a 4 °C y se utilizó en los análisis microbiológicos. Otra porción se secó al aire, se tamizó y se utilizó en los análisis físicos y químicos; el suelo sobrante se utilizó en un bioensayo en el invernadero.

Los análisis físicos y químicos de suelo se realizaron mediante los procedimientos analíticos de rutina de la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Se midió: textura (hidrómetro de Bouyoucus), densidad aparente (probeta), pH (CaCl₂ 0.01 M, relación 1:2.5), materia orgánica (digestión húmeda de Walkley y Black), nitrógeno total (microKjeldahl con ácido salicílico), fósforo extraíble (NaHCO₃ 0.5M, pH 8.5), K, Ca y Mg intercambiables y la capacidad de intercambio de cationes (CIC, en acetato de amonio 1N, pH 7). Se obtuvo la capacidad de intercambio de cationes efectiva (CICE, mediante la sumatoria de los cationes básicos y la acidez intercambiable). En el Cuadro 2 se muestra el valor medio y los valores máximos y mínimos de estas determinaciones para los suelos estudiados.

El número de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias, actinomicetos y hongos se obtuvo por duplicado en cada una de las muestras compuestas de suelo mediante la técnica de dilución seriada y vaciado en placa con medio selectivo. Para bacterias se utilizó el medio extracto de suelo-glucosa-agar modificado (Echegaray, 1991); para actinomicetos, el medio agar Czapeck-Dox (Merck), ambos con 40 µg mL⁻¹ de actidiona (ciclohexamida, Sigma Co.); y para hongos, el medio papa-dextrosa-agar (Difco) con 50 µg mL⁻¹ de estreptomycin y rosa de bengala 1:30000.

La respiración microbiana se midió por la cuantificación de la producción de CO₂ en tres repeticiones de 50 g de suelo de cada parcela. Los suelos se depositaron en frascos de vidrio con tapa de rosca y se incubaron a 29 °C. La humedad del suelo se ajustó a 35% al inicio del ensayo y después de cada lectura. El CO₂ se midió 1, 3,

Soil physical and chemical analyses were conducted according to routine analytical procedures of the Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Measurements taken were: texture (Bouyoucus hydrometer), apparent density (cylinder), pH (CaCl₂ 0.01 M, relation 1:2.5), organic matter (Walkley and Black humid digestion), total nitrogen (micro-Kjeldahl with salicylic acid), extractable phosphorus (NaHCO₃ 0.5M, pH 8.5), exchangeable K, Ca and Mg, and cation exchange capacity (CEC, in acetate of ammonium 1N, pH 7). The effective cation exchange capacity was obtained (ECEC, by the sum of basic cations and exchangeable acidity). Table 2 shows the average values and the maximum and minimum values of these determinations for the studied soils.

The number of colony-forming units (CFU) of bacteria, actinomicetes and fungi was obtained twice in each of the composite soil samples through the technique of serial dissolution and emptied on plates with a selective medium. Modified soil extract-glucose-agar medium (Echegaray, 1991), and agar medium Czapeck-Dox (Merck), both with 40 µg mL⁻¹ of actidione (cycloheximide, Sigma Co.) were used to count bacteria and actinomicetes; and, for fungi, potato-dextrose-agar (Difco) medium with 50 µg mL⁻¹ of streptomycin and 1:30 000 Bengala rose was used.

Microbial respiration was measured by quantifying the production of CO₂ in three replications of 50 g of soil from each plot. The soils were deposited in glass flasks with screw-on covers and incubated at 29 °C. The soil moisture was adjusted to 35% at the beginning of the assay and after each reading. CO₂ was measured 1, 3, 5 and 7 d after the beginning of the incubation. To absorb CO₂, 5 ml NaOH 1N and a small strip of filter paper was used. These were placed in a test tube inside the glass jars. The solution and the strip of filter paper were changed for each determination. Carbonate was precipitated with 2% barium chloride and the excess of NaOH was titrated with hydrochloric acid, using phenolphthalein as indicator (Echegaray, 1991). The quantity of CO₂ produced was obtained with Stotzky formula (1965) and was expressed in mg of C-CO₂ for g⁻¹ of soil. Based on the C-CO₂ produced, the percentage of C of the organic matter that was mineralized during the time of the incubation was calculated.

The potential of mycorrhizal inoculum of the soils was measured in a bioassay with corn in the greenhouse. The use of the bioassay was based on the proportional relation that is established between the density of the infective mycorrhizal propagules in the soil and the root

Cuadro 2. Valor medio y variación de las propiedades físicas y químicas del suelo en las localidades de Tzeteltón (n=26) y Bautista Chico (n=26), Chamula, Chiapas.
Table 2. Average value and variation of the physical and chemical properties of the soil in the localities of Tzeteltón (n=26) and Bautista Chico (n=26), Chamula Chiapas.

Propiedades del suelo	Tzeteltón			Bautista Chico		
	Media	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo	Máximo
Arcilla (%)	21.10	10.40	42.40	20.80	9.40	36.40
Arena (%)	45.40	25.60	63.60	40.70	10.00	53.20
Limo (%)	33.20	20.00	40.00	38.50	32.00	57.60
Densidad aparente (Mg m ⁻³)	1.03	0.84	1.17	1.00	0.93	1.08
pH (CaCl ₂ 0.01 M, relación 1:2.5)	4.90	4.10	5.80	5.20	4.50	6.30
Materia orgánica (mg g ⁻¹)	93.60	48.70	171.30	52.30	20.10	87.30
Nitrógeno total (mg g ⁻¹)	4.00	1.90	6.70	3.00	1.60	4.70
Relación C/N	14.10	9.90	23.60	10.20	4.20	19.10
Fósforo-Olsen (mg kg ⁻¹)	7.60	0.20	32.70	13.90	1.00	39.30
Potasio (cmol ⁺ kg ⁻¹)	0.40	0.20	0.90	0.60	0.30	1.10
Calcio (cmol ⁺ kg ⁻¹)	6.80	1.20	27.30	5.70	2.20	13.10
Magnesio (cmol ⁺ kg ⁻¹)	1.30	0.20	8.20	1.30	0.40	4.40
CICE (cmol ⁺ kg ⁻¹)	9.20	2.40	30.50	7.90	3.10	15.90
CIC (cmol ⁺ kg ⁻¹)	22.70	12.40	37.60	24.00	13.00	40.60

5 y 7 d después del inicio de la incubación. Para adsorber el CO₂ se utilizó 5 ml de NaOH 1N y una pequeña cinta de papel filtro, ambos colocados en un tubo de ensayo que se introdujo en cada uno de los frascos de vidrio con tapa de rosca. La solución y la cinta de papel filtro se cambiaron en cada una de las determinaciones. El carbonato se precipitó con cloruro de bario a 2%, y el exceso de NaOH se tituló con ácido clorhídrico, empleando fenolftaleína como indicador (Echegaray, 1991). La cantidad de CO₂ producido se obtuvo con la fórmula de Stotzky (1965) y se expresó en mg de C-CO₂ por g⁻¹ de suelo. Con base en el C-CO₂ producido, se calculó el porcentaje de C de la materia orgánica que se mineralizó durante el tiempo de la incubación.

El potencial de inóculo micorrízico de los suelos se midió en un bioensayo con maíz en el invernadero. El uso del bioensayo se fundamentó en la relación proporcional que se establece entre la densidad de propágulos micorrízicos infectivos en el suelo y la colonización de la raíz en estadios tempranos del desarrollo de la planta (Moormann y Reeves, 1979; Baltruschat y Dehne, 1988). El porcentaje de colonización de la raíz representó el índice del potencial de infección natural del suelo. Para ello, se llenaron cinco bolsas de plástico negro con 2 kg de suelo tamizado (malla de 5 mm de diámetro) de cada parcela y se sembraron tres semillas de maíz raza Olotón (*Zea mays* L.). Las bolsas con suelo y semillas de maíz se distribuyeron en el invernadero en un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones, en el cual permanecieron 60 días con riegos con agua de la llave cada tercer día y sin fertilizantes. Posteriormente se midió la actividad fijadora de nitrógeno atmosférico y la colonización micorrízica. La fijación biológica de nitrógeno se determinó por el método de reducción de acetileno mediante la incubación durante 24 h del sistema radical completo en frascos cerrados de 1 L de capacidad, y con 10% del volumen ocupado por acetileno. La cantidad de acetileno reducido a etileno se analizó por cromatografía de gases (Hardy *et al.*, 1977). La colonización micorrízica se determinó en una submuestra de raíces finas que fueron aclaradas con KOH y H₂O₂, y teñidas con azul tripano

colonization in early stages of plant development (Moorman and Reeves, 1979; Baltruschat and Dehne, 1988). The percentage of root colonization indicated the potential for natural infection of the soil. To that end, five bags of black plastic were filled with 2 kg of sieved soil (5 mm mesh) from each plot and three seeds of Olotón corn (*Zea mays* L.) were planted. The bags with soil and corn seeds were distributed in the greenhouse in a completely randomized experimental design with five replications, during 60 days, watered with tap water every other day and without fertilizers. Afterwards, nitrogen fixation activity and root mycorrhizal colonization were measured. The biological nitrogen fixation was determined by the acetylene reduction method during an incubation period of 24 h of the total root system in closed flasks of 1 L of capacity, and with 10% of the volume occupied by acetylene. The quantity of acetylene reduced to ethylene was analyzed by gas chromatography (Hardy *et al.*, 1977). Mycorrhizal colonization was determined in a sub-sample of fine roots that were cleared in KOH and H₂O₂ and stained with trypan blue in lactoglycerol (Phillips and Hayman, 1970). The register of the frequency of root segments with mycorrhizal structures was done with a compound microscope (100x) in accordance with Giovannetti and Mosse (1980).

Data were processed using analysis of variance and Tukey's HSD ($p \leq 0.05$). The influence of soil fertility characteristics on microbiological variables was verified following a Pearson bivariate correlation analysis ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The number of CFU of bacteria, actinomycetes and fungi did not vary significantly among cropping systems in the two localities (Table 3). In the soils of Bautista Chico, the number of bacteria and actinomycetes showed a positive correlation with the percentage of clays ($r=0.67$, $p \leq 0.01$; and $r=0.48$, $p \leq 0.05$) and with the exchangeable Mg ($r=0.48$, $p \leq 0.05$ and $r=0.75$, $p \leq 0.01$ respectively). In

en lactoglicerol (Phillips y Hayman, 1970). El registro de la frecuencia de segmentos de raíz con estructuras micorrízicas se realizó en un microscopio compuesto (100x), de acuerdo con Giovannetti y Mosse (1980).

Los datos se procesaron mediante análisis de varianza y la DSH de Tukey ($p \leq 0.05$). La influencia de las características de fertilidad del suelo sobre las variables microbiológicas se verificó mediante un análisis de correlación bivariada de Pearson ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de UFC de bacterias, actinomicetos y hongos del suelo no varió significativamente entre sistemas de producción en las dos localidades (Cuadro 3). En los suelos de Bautista Chico, el número de bacterias y de actinomicetos mostraron correlación positiva con el porcentaje de arcillas ($r = 0.67$, $p \leq 0.01$, y $r = 0.48$, $p \leq 0.05$, respectivamente) y con el Mg intercambiable ($r = 0.48$, $p \leq 0.05$ y $r = 0.75$, $p \leq 0.01$). En Tzeteltón no hubo correlación significativa entre el número de UFC de microorganismos y las características físicas y químicas de los suelos. La correlación positiva entre el número de bacterias y de actinomicetos con el porcentaje de arcillas puede estar relacionada con la protección de las arcillas a las poblaciones microbianas y a la estimulación del crecimiento microbiano por el incremento de la concentración de cationes en las arcillas. Las arcillas contribuyen al desarrollo de microagregados que constituyen los microhábitats en donde se desarrollan las poblaciones microbianas (Stotzky, 1997). En estos microhábitats los microorganismos obtienen los elementos necesarios para su crecimiento, así como protección frente a la desecación y la depredación por protozoarios del suelo (Roper y Smith, 1991).

In Tzeteltón there was no significant correlation between the CFU number of microorganisms and the soil physical and chemical characteristics. The positive correlation between the number of bacteria and actinomicetes with the percentage of clays can be related to the protection of microbial population by clays and to the stimulation of microbial growth by the increase of the concentration of cations in the clays. The clays contribute to the development of micro-aggregates that constitute microhabitats where the microbial populations develop (Stotzky, 1997). In these microhabitats the microorganisms obtain the elements necessary for their growth, as well as protection against desiccation and depredation by protozoa in the soil (Roper and Smith, 1991).

In Tzeteltón, the soil microbial respiration was higher in the arboreal fallow and in corn cultivated with long fallow than in the other systems; while in Bautista Chico the shrub fallow and the corn with short fallow, as well as the grassland, showed significantly higher values in relationship to the corn under pasture-cultivation rotation and continuous annual cultivation (Table 3). In both localities the microbial respiration had a positive correlation with the soil organic matter and total N; in Tzeteltón there was also a positive correlation with the soil pH, K, Ca, Mg and the soil CEC (Table 4). Nonetheless, the percentage of mineralized organic C was higher only in soils with corn and long fallow than in the continuous annual cultivation in Tzeteltón, and in soils with corn and short fallow than in corn with pasture-cultivation rotation in Bautista Chico (Table 3). The mineralized organic C had a positive correlation with the pH and the exchangeable K in both localities and a negative correlation with the C/N relation in Bautista Chico (Table 4).

Cuadro 3. Valores medios de las variables microbiológicas en los sistemas de producción de maíz en Chamula, Chiapas.
Table 3. Average values of the microbiological variables in the corn cropping systems in Chamula Chiapas.

Localidad/uso actual	Bac [†]	Act	Hon	Respiración microbiana mg C-CO ₂ g ⁻¹	C orgánico mineralizado %	Colonización micorrízica %	ARA nM planta día ⁻¹
	log UFC g ⁻¹						
Tzeteltón							
acahual arbóreo	6.27 a [¶]	6.31 a	4.41 a	0.23 a	0.33 ab	9.0 ab	5.19 a
maíz (b. largo)	6.63 a	6.56 a	4.72 a	0.22 a	0.39 a	5.1 b	13.05 a
pastizal	6.54 a	6.53 a	4.69 a	0.16 ab	0.30 ab	15.6 a	5.31 a
maíz (año y vez)	6.57 a	6.66 a	4.56 a	0.14 b	0.31 ab	11.6 ab	7.74 a
maíz continuo	6.37 a	6.43 a	4.45 a	0.14 b	0.27 b	11.8 ab	8.62 a
Bautista Chico							
acahual arbustivo	6.95 a	6.70 a	4.56 a	0.15 a	0.33 b	7.6 a	16.31 a
maíz (b. corto)	6.42 a	6.09 a	4.55 a	0.14 a	0.58 a	4.9 a	31.41 a
pastizal	6.56 a	6.23 a	4.55 a	0.15 a	0.45 ab	9.4 a	40.13 a
maíz (año y vez)	6.91 a	6.95 a	4.64 a	0.09 b	0.33 b	6.0 a	33.18 a
maíz continuo	6.69 a	6.62 a	4.58 a	0.09 b	0.39 ab	5.3 a	24.05 a

[†] Bac = bacterias; Act = actinomicetos; Hon = hongos; ARA = actividad reductora de acetileno.

[¶] Los valores seguidos por la misma letra entre sistemas de producción de una localidad no difieren significativamente entre sí (Tukey, $p \leq 0.05$).

La respiración microbiana del suelo en Tzeteltón fue más alta en el acahual arbóreo y en maíz cultivado con barbecho largo que en los otros sistemas, mientras que en Bautista Chico tanto el suelo del acahual arbustivo y el maíz con barbecho corto, como del pastizal presentaron valores significativamente más altos en relación con el maíz de año y vez y el maíz bajo cultivo anual continuo (Cuadro 3). En las dos localidades la respiración microbiana tuvo correlación positiva con la materia orgánica y el N-total del suelo; en Tzeteltón hubo también correlación positiva con el pH, K, Ca, Mg y la CIC del suelo (Cuadro 4). Sin embargo, el porcentaje de C orgánico mineralizado fue mayor únicamente en el suelo con maíz y barbecho largo que en el suelo con maíz bajo cultivo anual continuo en Tzeteltón, y en el suelo con maíz y barbecho corto que en aquel con maíz de año y vez en Bautista Chico (Cuadro 3). El C orgánico mineralizado tuvo correlación positiva con el pH y el K intercambiable en ambas localidades, y negativa con la relación C/N en Bautista Chico (Cuadro 4).

La respiración microbiana se incrementó más en los suelos con uso agrícola reciente que en los terrenos con más años de cultivo. La disminución de la respiración microbiana se relacionó con el abatimiento de las reservas orgánicas totales, el aumento de acidez y con la disminución de cationes básicos del suelo, como lo reportaron Verstraete y Voets (1977) y Ewel *et al.* (1981). Las diferencias en la proporción de C orgánico mineralizado entre los sistemas de producción en cada localidad, se relacionaron con la disminución de la fracción lábil de la materia orgánica y con las condiciones edáficas que afectaron su mineralización, principalmente el aumento de acidez del suelo y la disminución de la calidad de la materia orgánica (alta relación C/N). Palm *et al.* (1996) documentaron el incremento de la fracción lábil de la materia orgánica y una mayor tasa de mineralización durante

The microbial respiration was higher in soils that were newly cultivated than in those with more years of cultivation. The lower microbial respiration was related to the decrease of the total organic reserves, the increase of soil acidity and the decrease of basic cations, as was reported by Verstraete and Voets (1977) and Ewel *et al.* (1981). The differences in proportion of the mineralized organic C between cropping systems in each locality were related to a decrease in the labile fraction of the organic matter and to edaphic conditions that affect its mineralization, principally the increase of soil acidity and the decrease of quality of the organic matter (high C/N relation). Palm *et al.* (1996) documented the increase of the labile fraction of the organic matter and a better rate of mineralization during the initial phases of cultivation in the fallow systems. Duxbury and Nkambule (1994) indicated that under continuous cultivation a declination of the labile organic reserve of the soil due to the greater intensity and frequency of farming occurs. These results suggest the importance of encouraging management practices that contribute to the maintenance of the quantity and quality of the soil organic reserves. The periodic addition of organic amendments and minerals that reconstitute the soil organic reserves and basic cations must be considered in order to improve heterotrophic microbial activity in acid soils with intensive agricultural use.

The acetylene reducing activity did not vary significantly between cropping systems in the localities. The quantities of reduced acetylene were highest (about 250%) in Bautista Chico than in Tzeteltón (Table 3). The acetylene reducing activity had a negative correlation with total N in Tzeteltón ($r=-0.35$, $p\leq 0.05$) and in Bautista Chico ($r=-0.49$, $p\leq 0.01$) and positive with the C/N relation in Tzeteltón ($r=0.37$, $p\leq 0.05$). The inhibiting effects of soil N in the acetylene reducing activity, and

Cuadro 4. Coeficientes de correlación de Pearson (r) y significancia (p) de la actividad biológica con las propiedades químicas del suelo en Chamula, Chiapas.

Table 4. Pearson correlation coefficients (r) and significance (p) of the biological activity with the chemical properties of the soil in Chamula, Chiapas.

	Respiración microbiana (mg C-CO ₂ g ⁻¹)				Carbono mineralizado (%)			
	Tzeteltón		Bautista Chico		Tzeteltón		Bautista Chico	
	r	p	r	p	r	p	r	p
pH	0.44	0.01	0.06	0.77	0.49	0.01	0.40	0.05
MO	0.50	0.01	0.51	0.01	-0.37	0.05	-0.50	0.01
N total	0.56	0.01	0.54	0.01	-0.14	0.48	-0.03	0.88
Relación C/N	-0.10	0.60	0.14	0.48	-0.29	0.12	-0.59	0.01
K intercambiable	0.51	0.01	0.09	0.67	0.51	0.01	0.56	0.01
Ca intercambiable	0.42	0.01	0.08	0.71	0.34	0.07	0.31	0.13
Mg intercambiable	0.47	0.01	-0.06	0.76	0.19	0.32	0.06	0.77
CICE	0.50	0.01	0.06	0.79	0.33	0.08	0.26	0.20
CIC	0.71	0.01	-0.21	0.30	0.33	0.08	-0.10	0.62

las fases iniciales de cultivo en los sistemas con barbecho. Duxbury y Nkambule (1994) indicaron que bajo cultivo continuo se presentó un abatimiento de la reserva orgánica lábil del suelo debido a una mayor intensidad y frecuencia de la labranza. Estos resultados sugieren la importancia de fortalecer prácticas de manejo que contribuyan a mantener la cantidad y calidad de las reservas orgánicas del suelo. La adición periódica de enmiendas orgánicas y minerales que restituyan las reservas orgánicas y los cationes básicos del suelo debe ser considerada para mejorar la actividad microbiana heterotrófica en suelos ácidos con uso agrícola intensivo.

La actividad reductora de acetileno no varió significativamente entre los sistemas de producción de las localidades. Las cantidades de acetileno reducido fueron mayores (cerca de 250%) en Bautista Chico que en Tzeteltón (Cuadro 3). La actividad reductora de acetileno tuvo correlación negativa con el N total del suelo en Tzeteltón ($r=-0.35$, $p\leq 0.05$) y en Bautista Chico ($r=-0.49$, $p\leq 0.01$) y positiva con la relación C/N en Tzeteltón ($r=0.37$, $p\leq 0.05$). El efecto inhibitorio del N del suelo en la actividad reductora de acetileno, y por consiguiente en la fijación biológica del nitrógeno, ha sido demostrado en otros estudios (Fallik *et al.*, 1988; Kolb y Martin, 1988). Este efecto se explica por la inhibición de la nitrogenasa debida a la sustitución del N atmosférico por N mineral como la fuente de N para los diazotrofos; pero también, por la supresión competitiva de las bacterias fijadoras del N₂ debido al efecto que el N total del suelo tuvo en el incremento de la respiración microbiana.

La mayor actividad de nitrogenasa obtenida en los suelos de Bautista Chico en relación con los de Tzeteltón, sugiere que además del N total, otras características edáficas influyeron en la actividad de la simbiosis. Tzeteltón tuvo, en promedio, valores de pH más ácidos que Bautista Chico (pH 4.9 y 5.2, respectivamente), lo que pudo haber afectado la supervivencia de *Azospirillum* en el suelo (Dobereiner, 1978; New y Kennedy, 1989) y su adsorción a la raíz del maíz (Gafny *et al.*, 1986). Así mismo, en condiciones de mayor acidez del suelo, disminuye la disponibilidad de nutrimentos para las plantas, particularmente de fósforo y molibdeno (Sánchez, 1976) y, por ende, la actividad reductora de acetileno. En Tzeteltón el valor promedio de P extraíble del suelo fue 7.6 mg kg⁻¹, mientras que en Bautista Chico se incrementó a 13.9 mg kg⁻¹.

El porcentaje de colonización micorrízica del maíz en Tzeteltón fue significativamente mayor en los suelos del pastizal que en los cultivados con maíz del barbecho largo, mientras que en Bautista Chico no hubo diferencias significativas entre sistemas de producción (Cuadro 3). El porcentaje de colonización micorrízica del maíz tuvo correlación positiva con la CIC y el pH en los suelos de Tzeteltón ($r=0.44$, $p\leq 0.01$, y $r=0.51$, $p\leq 0.01$, respectivamente).

consequently in the nitrogen biological fixation, has been demonstrated in other studies (Fallik *et al.*, 1988; Kolb and Martin, 1988). This effect is explained by the inhibition of the nitrogenase due to the substitution of atmospheric N by mineral N, as the source of N for the diazotrophs, but also, by the competitive suppression of the N₂ fixing bacteria due to the effect that the total N of the soil has on the increase of the microbial respiration.

Better nitrogenase activity was obtained in soils of Bautista Chico compared to those of Tzeteltón, suggesting that besides total N, other edaphic characteristics influenced the symbiotic activity. Tzeteltón had, on average, more acidic pH values than Bautista Chico (4.9 and 5.2 pH, respectively), which could have affected the survival of *Azospirillum* in the soil (Dobereiner, 1978; New and Kennedy, 1989) and its adsorption to corn root (Gafny *et al.*, 1986). Also, in conditions of higher soil acidity, the availability of plant nutrients decreases, particularly of phosphorus and molybdenum (Sánchez, 1976) and, therefore the acetylene reducing activity. In Tzeteltón the average value of extractable P was 7.6 mg kg⁻¹, while in Bautista Chico it was 13.9 mg kg⁻¹.

The percentage of mycorrhizal colonization of corn in Tzeteltón was significantly higher in the grassland soils than in the cultivated soils with corn of the long fallow, while in Bautista Chico there was not significant difference between cropping systems (Table 3). The percentage of mycorrhizal colonization had a positive correlation with the CEC and the pH in the Tzeteltón soils ($r=0.44$, $p\leq 0.01$, and $r=0.51$, $p\leq 0.01$ respectively). In Bautista Chico there was no significant correlation between corn mycorrhizal colonization and the physical and chemical characteristics of the soils. The positive relation of CEC and pH with mycorrhizal colonization was possibly due to the beneficial effect that the better soil fertility conditions had on the survival of fungal propagules (Clark, 1977). The increase of mycorrhizal colonization of corn in the grassland soils of Tzeteltón was related to the radical gramineous system that facilitates the propagation of the mycorrhizal endophytes (Jarstfer and Sylvia, 1993; Sylvia 1994). It can be inferred that this successional condition of the fallow vegetation helps to maintain the mycorrhizal inoculum potential of the soil. Smith and Read (1997) indicated that grassland that combines mycotrophic plants and a low level of disturbance contribute to rise the inoculum potential of the soil.

CONCLUSIONS

The cropping system had a statistically significant influence on the microbial respiration, the percentage of mineralized organic C and the percentage of mycorrhizal colonization of corn. The number of bacteria,

En Bautista Chico no hubo correlación significativa entre la colonización micorrízica del maíz y las características físicas y químicas de los suelos. La relación positiva de la CIC y el pH del suelo con la colonización micorrízica se debe, posiblemente, al efecto benéfico que tienen las condiciones de mayor fertilidad del suelo sobre la supervivencia de los propágulos fúngicos (Clark, 1997). El incremento de la colonización micorrízica del maíz en los suelos del pastizal en Tzeteltón se relaciona con el sistema radical graminoide que facilita la propagación de los endófitos micorrízicos (Jarstfer y Sylvia, 1993; Sylvia, 1994). Puede inferirse que esta condición sucesional de la vegetación en barbecho contribuye a mantener el potencial de inóculo micorrízico del suelo. Smith y Read (1997) indicaron que los pastizales que combinan plantas micotróficas y bajo nivel de disturbio, contribuyen a elevar el potencial de inóculo del suelo.

CONCLUSIONES

El sistema de producción tuvo influencia estadísticamente significativa en la respiración microbiana, el porcentaje de C orgánico mineralizado y el porcentaje de colonización micorrízica de maíz. El número de bacterias, actinomicetos y hongos, y la actividad reductora de acetileno de maíz no variaron significativamente entre sistemas de producción. La respiración microbiana fue menor en parcelas bajo cultivo anual continuo o de la rotación pastizal-cultivo que con barbecho largo o corto, indistintamente de su condición en cultivo (maíz) o en barbecho (acahuales arbóreo y arbustivo). La mineralización del C orgánico fue menor en parcelas con maíz bajo cultivo anual continuo o de la rotación pastizal-cultivo que en las cultivadas con maíz de barbecho largo o corto. La colonización micorrízica de maíz fue mayor en los suelos del pastizal que en los cultivados con maíz del barbecho largo. La disminución de la respiración microbiana, en parcelas con uso agrícola más intensivo, se relacionó con la declinación de las reservas orgánicas totales, el aumento de acidez y la disminución de cationes básicos del suelo. Estos resultados muestran la importancia de fortalecer las prácticas de manejo que restituyan la cantidad y la calidad de las reservas orgánicas y cationes básicos del suelo para mejorar la actividad microbiana heterotrófica en suelos ácidos con uso agrícola intensivo. Asimismo, destacan la importancia del pastizal en el mantenimiento del potencial de inóculo micorrízico del suelo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Fundación México-Estados Unidos para la Ciencia y al Sistema de Investigación Regional Benito Juárez el apoyo financiero para la realización del presente trabajo. Miguel A.

actinomicetos and fungi, and the acetylene reducing activity on corn did not vary significantly among cropping systems. Microbial respiration was lower in plots under continuous annual cultivation or with pasture-cultivation rotation than in long or short fallow systems, irrespective of their condition in cultivation (corn) or fallow (arboreal and shrub vegetation). The organic C mineralization was lower in plots with corn under annual cultivation or in a pasture-cultivation rotation than in cultivated plots from short or long fallow. Mycorrhizal colonization of corn was higher in grassland than in cultivated soils from long fallow. The decrease in microbial respiration in plots with intensive cultivation was related to the decline in total organic reserves, the increase in acidity and the decrease of basic cations in the soil. These results show the importance of encouraging management practices that restore the quantity and quality of organic reserves and basic cations of the soil in order to improve the heterotrophic microbial activity in acidic soils with intensive agricultural use. Likewise, emphasize the importance of grassland in the maintenance of the mycorrhizal inoculum potential of the soil.

—End of the English version—



López A. colaboró en la realización de los análisis físicos y químicos del suelo.

LITERATURA CITADA

- Alarcón, A., Frederick T. Davies Jr, J. N. Egilla, T. C. Fox, A. A. Estrada-Luna, and R. Ferrera-Cerrato. 2002. Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus stress. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 44: 31-37.
- Alemán S., T. 1989. Los sistemas de producción forestal y agrícola de roza. *In: El subdesarrollo de la producción silvoagropecuaria en Los Altos de Chiapas.* Parra V., M. R. (ed.). Universidad Autónoma de Chapingo-Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, México. pp: 83-151.
- Alemán S. T., y M. L. López, M. 1989. Los sistemas de producción agrícola. *In: El subdesarrollo de la producción silvoagropecuaria en Los Altos de Chiapas.* Parra V., M. R. (ed.). Universidad Autónoma de Chapingo-Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, México. pp: 153-237.
- Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del Suelo. AGT Editor, S. A. 491 p.
- Álvarez-Solís, J. D., y N. S. León-Martínez. 1997. Fertilidad del suelo y sistemas simbióticos. *In: Los Altos de Chiapas: Agricultura y crisis rural.* Parra V., M. R. y B. Díaz H. (eds). El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. pp: 43-64.
- Álvarez-Solís, J. D., P. M. Rosset, B. M. Díaz-Hernández, H. Plascencia-Vargas, y R. R. Rice. 1998. El impacto de la transformación del paisaje sobre la base productiva de los Altos de Chiapas, México –avances preliminares–. *In: Memorias del Seminario sobre Manejo de Suelos Tropicales en Chiapas.* El Colegio de la

- Frontera Sur, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. pp: 65-82.
- Baltruschat, H., and H. W. Dehne. 1988. The occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in agro-ecosystems. I. Influence of continuous monoculture and crop rotation, green manure and nitrogen fertilization in inoculum potential with winter wheat. *Plant and Soil* 107: 279-284.
- Clark, R. B. 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant and Soil* 192: 15-22.
- Díaz H., B. M., Plascencia V. H., Ojeda T. E., y Ortiz Solorio, C. A. 1999. Cambios en el uso del suelo en una comunidad de Los Altos de Chiapas, México. *Agrociencia* 33: 463-471.
- Díaz-Raviña, M., M. J. Acea, and T. Carballas. 1993. Microbial biomass and its contribution to nutrients concentrations in forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 25: 25-31.
- Dobereiner, J. 1978. Influence of environmental factors on the occurrence of *Spirillum lipoferum* in soils and roots. *Ecol. Bull. (Stockholm)* 26: 343-352.
- Duxbury, J. M., and S. V. Nkambule. 1994. Assessment and significance of biologically active soil organic nitrogen. *In: Defining Soil Quality for a Sustainable Environment.* Doran, J. W., D. C. Coleman, D. F. Bezdicck, and B. A. Stewart (eds). SSSA Special Publication Number 35. pp: 125-146.
- Echegaray, A. 1991. *Prácticas del Curso: Microbiología del Suelo.* Centro de Edafología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 47 p. (mimeo.)
- Ewell, J., C. Berish, B. Brown, N. Price, and J. Raich. 1981. Slash and burn impacts on a Costa Rican wet forest site. *Ecology* 62: 816-829.
- Fallik, E., Y. Okon, and M. Fischer. 1988. Growth response of maize roots to *Azospirillum* inoculation: effect of soil organic matter content, number of rhizosphere bacteria and timing of inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 20: 45-49.
- Gafny R., Y. Okon, Y. Kapulnik, and M. Fischer. 1986. Adsorption of *Azospirillum brasiliense* to corn roots. *Soil. Biol. Biochem.* 18: 69-75.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México. 211 p.
- Giovannetti M., and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- González-Espinosa, M., P. F. Quintana-Ascencio, N. Ramírez-Marcial, and P. Gaytán-Guzmán. 1991. Secondary succession in disturbed *Pinus-Quercus* forests in the highlands of Chiapas, México. *Journal of Vegetation Science* 2: 351-360.
- Hardy, R. N. F., R. C. Burns, and R. Holsten. 1977. Applications of the acetilene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.* 5:47-81.
- INEGI. 1985. *Cartas Geológica y Edafológica.* Tuxtla Gutiérrez (E15-11). Escala 1: 250,000. Secretaría de Programación y Presupuestos, Subdirección de Geografía. México, D.F.
- Jarstfer, A. G., and D. M. Sylvia. 1993. Inoculum production and inoculation strategies for vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *In: Soil Microbial Ecology,* Metting, F. B. (ed.). Marcel Dekker, Inc. pp: 349-377.
- Kolb, W., and P. Martin. 1988. Influence of nitrogen on the number of N₂-fixing and total bacteria in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* 20: 221-225.
- Mera O., L. M. 1989. Condiciones naturales para la producción. *In: El subdesarrollo agrícola en Los Altos de Chiapas.* Parra V., M. R. (ed). Universidad Autónoma de Chapingo-Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, México. pp: 21-82.
- Moormann, T. N., and B. Reeves. 1979. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. II. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. *Am. J. Bot.* 66: 14-18.
- New, P. B., and I. R. Kennedy. 1989. Regional distribution and pH sensitivity of *Azospirillum* associated with wheat roots in Eastern Australia. *Microb. Ecol.* 17: 299-309.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación, Martes 31 de diciembre de 2002.
- Palm, A. C., J. M. Swift, and L. P. Woomer. 1996. Soil biological dynamics in slash-and-burn agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 58: 61-74.
- Parra V., M. R., y B. Díaz H. 1997. Introducción. *In: Los Altos de Chiapas: Agricultura y crisis rural.* Parra V., M. R. y B. Díaz H. (eds). El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. pp: XI-XVII.
- Phillips, J. M., and S. D. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Pool-Novelo, L., A. Trinidad-Santos, J. Etchevers-Barra, J. Pérez-Moreno, y A. Martínez-Garza. 2000. Mejoradores de la fertilidad del suelo en la agricultura de ladera de Los Altos de Chiapas, México. *Agrociencia* 34: 251-259.
- Roper, M. M., and A. N. Smith. 1991. Straw decomposition and nitrogenase activity (C₂H₂ reduction) by free-living microorganisms from soil: effects of pH and clay content. *Soil Biol. Biochem.* 23: 275-283.
- Sánchez A., P. 1976. *Properties and management of soils in the tropics.* John Wiley and Sons, Inc. 611 p.
- Smith, S. E., and D. J. Read. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis.* Academic Press. 605 p.
- Steenhoudt, O., and J. Vanderleyden. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews* 24: 487-506.
- Stotzky, G. 1965. Microbial respiration. *In: Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbial Properties.* C. A. Black, D. D. Evans, J. L. White, L. E. Ensminger y F. E. Clark (eds). Am. Soc. Agron. Madison. pp. 1550-1572.
- Stotzky, G. 1997. Soil as an environment for microbial life. *In: Modern soil microbiology.* Van Elsas, J. D., J. Trevors, T., and E. Wellington MH. (eds). Marcel Dekker, Inc. pp: 1-20.
- Sylvia, D. M. 1994. Vesicular-Arbuscular mycorrhizal fungi. *In: Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties.* SSSA Book Series, No. 5. American Society of Agronomy, Madison. pp: 351-378.
- Velasco V. J., R. Ferrera-Cerrato, y J. J. Almaráz-Suárez. 2001. Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasiliense* en tomate de cáscara. *Terra* 19: 241-248.
- Verstraete, W., and J. P. Voets. 1977. Soil microbial and biochemical characteristics in relation to soil management and fertility. *Soil Biol. Biochem.* 9: 253-258.