

EFFECTO DE UN HERBICIDA DEL GRUPO DE LAS CLORO -S- TRIAZINAS EN LA MICROFLORA DE ALGUNOS SUELOS DEL VALLE DE TOLUCA, ESTADO DE MEXICO

Sergio Palacios-Mayorga* y
Laura Beatriz Mier-Herrera*

RESUMEN

El propósito del presente estudio fue evaluar el efecto residual del herbicida "Gesaprim 50" en las poblaciones de bacterias, actinomicetos, hongos y en los microorganismos de los ciclos del carbono, azufre y nitrógeno (incluyendo fijadores de nitrógeno libres y simbióticos). Esta evaluación fue hecha después de seis meses de la aplicación del herbicida en el campo, en dosis pre y post-emergente de 2 kg/ha.

Los análisis estadísticos mostraron que la microflora del suelo resulta afectada por este producto, incrementando o disminuyendo su población. Las poblaciones de bacterias, hongos, fijadores (libres) de nitrógeno y de *Rhizobium trifolii* resultaron incrementadas, mientras que las poblaciones de *Nitrosomonas* spp. celulolíticos y de reductores de sulfatos resultaron considerablemente disminuidas. Los microorganismos amonificantes y *Nitrobacter* spp. fueron ligeramente disminuidos. Finalmente, no se observaron efectos significativos en las poblaciones de actinomicetos y de microorganismos desnitrificantes.

La cuantificación y caracterización de la población nativa de *R. trifolii* (en tres especies de trébol) y de *R. phaseoli* (en dos variedades de frijol), indicaron que: (1) después de seis meses de la aplicación del herbicida no se detectó ningún efecto residual negativo en las mencionadas especies de *Rhizobium*; y (2) resulta necesaria la experimentación con inoculantes en estos suelos en particular, para encontrar las cepas más adecuadas que incrementen los beneficios de la simbiosis *Rhizobium* - leguminosa.

ABSTRACT

The purpose of the present study was to evaluate the residual effect of herbicide "Gesaprim 50" on the populations of bacteria, actinomycetes and on the microorganisms involved in the carbon, sulphur and nitrogen cycles (including free and symbiotic nitrogen fixers). This evaluation was done six months after the application of 2 kg/ha of the herbicide to the soil both before and after weed emergence.

Statistical analysis showed that the soil microflora population was both increased and decreased by this product. The population of bacteria, fungi, free nitrogen fixers and *Rhizobium trifolii* was increased. On the other hand, the populations of *Nitrosomonas* spp., cellulolytic and sulphate-reducing microorganisms were considerably decreased. The populations of ammonifying microorganisms and *Nitrobacter* spp., were slightly reduced. Finally, on actinomycetes and denitrifying microorganisms no significant effects were observed.

Quantification and characterization of native population of *R. trifolii* (in three clover species) and of *R. phaseoli* (in two bean varieties) showed that: (1) after six months of herbicide treatment, no negative residual effects were apparent on the above mentioned *Rhizobium* species, and (2) experiments with inoculants in these particular soils are necessary in order to find out the most suitable strains able to increase the benefits from *Rhizobium* - legume symbiosis.

INTRODUCCION

Durante las tres últimas décadas se ha incrementado, en forma notable, el uso de los herbicidas para el control de las malas hierbas, las cuales constituyen uno de los factores que ocasiona pérdidas hasta del 30% en las cosechas.

En relación con la eficacia de estos productos, en los últimos años se han investigado dos aspectos importantes:

(1) Su efectividad y persistencia, es decir, el tiempo requerido para que se disipe su efecto tóxico en el suelo, lo cual depende de la naturaleza química del producto, del tipo de cultivo, condiciones climáticas, dosis utilizadas y métodos de aplicación, así como de los factores edáficos tales como textura, reacción del suelo, contenido de materia orgánica, microorganismos del suelo, etc. (Klingman, 1961; Wayland y Hayes, 1975), y

(2) El efecto de los herbicidas sobre la microflora del suelo que participa directamente en los ciclos del carbono, nitrógeno y azufre, de vital importancia para la fertilidad del suelo.

Los herbicidas cloro-S-triazinas (atrazina, simazina y propazina) están clasificados, según Rizwanul y Freed (1975), como herbicidas de persistencia moderada; es decir, requieren de cinco a seis meses para que se disipen del suelo en un 50%. Allott (1969) y Zimadahl y colaboradores (1970) consideran que alrededor del 80% de la atrazina es degradada en un año.

En relación a la importancia de los factores edáficos en la evolución de los herbicidas, Takai y colaboradores (1975) han concluido que el tipo de suelo influye más que la temperatura y la luz en la desintegración de la simazina. Weber y colaboradores (1974) encontraron una diferencia de importancia en la cantidad del herbicida biológicamente activo, recuperado de suelos tratados con arcilla y materia orgánica. Además, se ha reportado una

* Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México 20, D. F.

diferencia en la persistencia de la atrazina, de acuerdo con la textura del suelo (Libik y Romanowsky, 1976).

En el aspecto microbiológico, Mashtakov y colaboradores (1962) también encontraron que el efecto del herbicida varió con el tipo de suelo, basándose en el hecho de que la microflora de un suelo podzólico turboso fue más sensible, en comparación con la de un suelo podzólico de pradera.

Chunderova y Zubets (1970) observaron que la atrazina y simazina redujeron hasta un 50% las bacterias nitrificantes. En sentido opuesto se ha publicado que, bajo ciertas dosis de estos herbicidas, se observa un incremento de microorganismos: celulolíticos (Spirodonov y Yakovlev, 1968), nitrificantes (Joshi *et al.*, 1976), así como un incremento en la amonificación (Ladislav, 1976).

Deshmukh y Shrikhande (1974a) encontraron que la aplicación de simazina y atrazina en tratamientos pre y post-emergentes no afectó la población bacteriana ni los procesos de amonificación y nitrificación. Estos mismos autores (1974b) concluyen que dosis altas de simazina, entre otros herbicidas, hacen decrecer la fijación de nitrógeno efectuada por *Azotobacter* spp. Cole (1976) observó que, con aplicaciones anuales de 3.4 kg/ha de atrazina, no se afecta el número viable de bacterias y de hongos.

Liu y Cibes-Viado (1972) observaron que, en comparación con otros herbicidas, la atrazina estimuló 6% la respiración de uno de los suelos estudiados por ellos.

La realización de este estudio fue motivada por la diversidad de datos existentes en la bibliografía, así como por la falta de investigaciones sobre este campo en nuestro país. Su objetivo es el de contribuir al conocimiento sobre la evolución del herbicida "Gesaprim 50", del cual la atrazina es su componente principal, a través de la cuantificación de la microflora total del suelo y, en especial, la de los ciclos del carbono, nitrógeno y azufre. Estos objetivos tienen su fundamento en lo ya expuesto por otros autores acerca de que en la evolución de los herbicidas en el suelo, influye el tipo de suelo; por lo que se determina que, entre otros aspectos, la sensibilidad de algunos grupos microbianos a ciertos herbicidas varíe de un suelo a otro.

LOCALIZACION

El área de estudio se localiza entre el paralelo 19°15' de latitud norte y el meridiano 99°27' de longitud oeste; a una altitud de 2,677 m.s.n.m. y comprende dos terrenos de cultivo de temporal contiguos, en el Municipio de Capulhuac, Estado de México, dedicados principalmente al cultivo de maíz. El clima de la región es templado, subhúmedo, con lluvias de verano, temperatura media anual de 16.3°C y una precipitación media anual de 1,035.5 mm (García, 1973).

Según la Carta Edafológica del Estado de México (Gobierno del Estado de México, 1971), los suelos del Municipio de Capulhuac corresponden al tipo clasificado como andosol húmico. Clasificaciones más recientes (FAO/UNESCO), modificadas por DETENAL (1976), indican que estos suelos corresponden a la unidad feozem háplico.

En un estudio previo de estos suelos, Vega y Villegas (1978) señalan cantidades bajas de nitrógeno total, potasio en valores medios y calcio y magnesio en cantidades altas.

MATERIALES Y METODOS

Tratamiento de los suelos.—Los suelos objeto del presente estudio fueron clasificados como I y II. El primero, con una superficie aproximada de 3 hectáreas, fue tratado con el herbicida "Gesaprim 50", aplicado en "banda" en dosis pre y post-emergente de 2 kg/ha (o sea, con una dosis anual total de 4 kg/ha). El suelo II, que comprende una superficie aproximada de 2 hectáreas, correspondió al suelo testigo, no tratado con el herbicida. Ambos suelos fueron cultivados con maíz.

Muestreo.—El muestreo se llevó a cabo después de la cosecha, seis meses después de la aplicación del herbicida. Se tomaron muestras de 6 pozos, tres del suelo I y tres del II, a una profundidad de 0-30 cm. Las muestras destinadas al análisis microbiológico se recolectaron en frascos estériles y se les mantuvo bajo refrigeración hasta su utilización. El suelo para análisis físicos y químicos fue secado al aire y tamizado a través de la malla número 20.

Determinaciones físicas y químicas.—En las muestras recolectadas, se practicaron las siguientes determinaciones físicas y químicas, con los métodos que se indican a continuación.

Textura: Según el método de Bouyoucos (1963).

Reacción del suelo (pH): Se determinó en suspensión de suelo —agua destilada y suelo— solución KCl 1N pH 7.0, en relación 1:2.5 para ambos suelos, utilizando un potenciómetro marca Corning.

Capacidad de intercambio catiónico total: Por el método de centrifugación, saturando con CaCl₂ 1N pH 7.0 y titulando con versenato (Jackson, 1964).

Calcio y magnesio intercambiables: Extrayendo el calcio y magnesio del suelo con una solución de acetato de sodio 1N pH 7.0 por centrifugación y titulando con EDTA.

Calcio y magnesio solubles: Determinados en el extracto de pasta de saturación, titulando como en el caso anterior.

Potasio soluble: En el mismo extracto de pasta de saturación, por el método flamométrico, utilizando un flamómetro marca Coleman.

Fósforo asimilable: Colorimétricamente, según el método Bray I (Bray y Kurtz, 1945).

Materia orgánica: Por combustión húmeda según el método de Walkley y Black, modificado por Walkley (1947).

Nitrógeno total: Por digestión de Kjeldahl, sin incluir nitratos (Association of Official Agricultural Chemists, 1970).

Determinaciones microbiológicas.—Se utilizó el método de las diluciones de suelo en placa para la cuantificación de bacterias, hongos, actinomicetos y bacterias (libres) fijadoras de nitrógeno. El de dilución límite y las tablas de McCrady (1946) se utilizaron para determinar el número más probable (NMP) de microorganismos: amonificantes, desnitrificantes, celulolíticos, reductores de sulfatos, *Rhizobium trifolii* y *Rhizobium phaseoli*. Se empleó solución Ringer como diluyente en todos los casos. En

todos los medios de cultivo se aplicó 1 ml de inóculo, a excepción del medio para *R. trifolii*. En ambos suelos los análisis se hicieron por triplicado.

Medios de cultivo:

- (A) Medio de extracto de suelo-agar, Bunt y Rovira (1955), para bacterias y actinomicetos.
- (B) Medio de Rosa de Bengala-estreptomocina-agar, Martin (1950), para hongos.
- (C) Medio de Katznelson (1946), para microorganismos amonificantes.
- (D) Medio propuesto por Barkworth y Bateson (1965), para microorganismos nitrificantes (*Nitrosomonas* spp. y *Nitrobacter* spp.).
- (E) Medio propuesto por Timonin (1946), para microorganismos desnitrificantes.
- (F) Medio de Lipman, Rubenchik (1963), para bacterias (libres) fijadoras de nitrógeno.

Las bacterias simbióticas *R. trifolii* y *R. phaseoli* se estimaron mediante la técnica de recuento indirecto por "infección de plantas". Para la primera se utilizaron las especies de trébol: ladino (*Trifolium repens*), rojo (*Trifolium pratense*) y berseem (*Trifolium alexandrinum*), sembrándose en tubos de cultivo conteniendo 7 ml del medio agarificado de Jensen (1942), con 4 plántulas de 3 días; cada tubo fue inoculado con 0.2 ml de la dilución de suelo deseada. En el segundo caso se utilizaron las variedades de frijol canario 107 y flor de mayo (*Phaseolus vulgaris* L.), empleándose el dispositivo "Jarra de Leonard" y el medio líquido de Jensen, descritos por Vincent (1970). En cada jarra se colocaron 4 plántulas (dos de cada variedad) de cinco días de edad.

- (G) Medio de Dubos (1928), para microorganismos celulolíticos.
- (H) Medio de Starkey modificado, citado por Garrasini (1967), para microorganismos reductores de sulfatos.

Análisis estadísticos:

Se utilizó la prueba de "t de Student" de dos medias con igual varianza (Murray, 1961).

RESULTADOS Y DISCUSION

Desde el punto de vista de sus propiedades físicas y químicas (Tabla 1), los suelos I y II se caracterizan por tener una textura moderadamente fina (migajón arcillosa). La reacción del suelo varió ligeramente; medianamente ácida en el suelo I y ligeramente ácida en el II. En ambos suelos la capacidad de intercambio catiónico total dio valores medios.

Los cationes intercambiables, calcio y magnesio, 3.5 y 2.5 Meq/100 g en el suelo I, y 4.0 y 1.5 Meq/100 g en el suelo II, se consideran valores bajo y medio en el suelo I, y bajos en el II, respectivamente. La concentración de estos mismos cationes en forma soluble resultó menor en el suelo I.

El calcio y magnesio asimilables, 1,403 y 608 kg/ha en el suelo I, y 1,603 y 365 kg/ha en el suelo II, se interpretan en ambos suelos como valores medios de calcio y altos de magnesio. La diferencia cuantitativa del calcio y magnesio entre estos dos suelos no es significativa desde el punto de vista de su fertilidad.

El potasio soluble alcanzó valores bajos en los dos suelos: 0.3 kg/ha y 0.2 kg/ha, suelos I y II, respectivamente.

La cantidad de fósforo asimilable, 56.0 kg/ha en el suelo I y 87 kg/ha en el suelo II, se interpreta como un valor medio en ambos suelos.

El contenido de materia orgánica varió ligeramente en los dos suelos. Los porcentajes se consideran medios, 3.45 y 2.80, suelos I y II, respectivamente.

Se interpretan también como valores medios los porcentajes de nitrógeno total: 0.29% y 0.25%. Estos valores concuerdan con la relación C/N en ambos suelos.

El efecto residual del herbicida "Gesaprim 50" sobre los microorganismos del suelo se resume en la Tabla 2. En primer lugar se observa que, en los dos suelos, la población microbiana resultó bastante baja; especialmente si se toma en consideración que se trata de suelos cultivados. Sin embargo, cuentas microbianas bajas similares se han relacionado con suelos derivados o influenciados por cenizas volcánicas (Palacios *et al.*, 1973; López, 1972).

Tabla 1.—Algunas propiedades físicas y químicas de los suelos.

Suelo	Textura			pH		C.I.C.T. Meq/100 g	Cationes Intercambiables		Cationes Solubles		Cationes Asimilables		Fósforo Asimilable Kg/ha	M.O. %	N.T. %	Rel. C/N		
	Profundidad cm	Arena %	Limo %	Arcilla %	1:2.5 H ₂ O		Ca ⁺⁺ Meq/100 g	Mg ⁺⁺ Meq/100 g	Ca ⁺⁺ Meq/1	Mg ⁺⁺ Meq/1	Ca ⁺⁺ Kg/ha	Mg ⁺⁺ Kg/ha						
					KCl													
Suelo I	0-30	32	32	36	6.1	4.8	19.0	3.5	2.5	4.2	2.2	0.3	1,403	608	56	3.45	0.29	6.9
		migajón arcillosa																
Suelo II	0-30	44	28	28	6.3	5.0	16.5	4.0	1.5	1.6	1.2	0.2	1,603	365	87	2.80	0.25	6.5
		migajón arcillosa																

Nota:

Suelo I = Con herbicida "Gesaprim 50".
 Suelo II = Testigo (sin herbicida).
 C.I.C.T. = Capacidad de intercambio catiónico total.

M.O. = Materia orgánica.
 N.T. = Nitrógeno Total.
 Rel. C/N = Relación carbono/nitrógeno.

Tabla 2.—Efecto del herbicida "Gesaprim 50" sobre la microflora del suelo, después de seis meses de su aplicación en el campo (número de microorganismos por gramo de suelo seco).

Microorganismos	Suelo II		Suelo I		SIGNIFICADO ESTADISTICO	
					Incremento	Decremento
Bacterias	1,620,928	± 216,746	2,196,191	± 361,816	**	—
Actinomicetos	540,957	± 152,576	539,681	± 183,860	—	—
Hongos	8,604	± 803	12,171	± 2,318	**	—
Amonificantes	905,357	± 284,700	284,757	± 89,020	—	•
<i>Nitrosomonas</i> spp.	1,160	± 75	154	± 12	—	**
<i>Nitrobacter</i> spp.	462	± 205	52	± 102	—	•
Desnitrificantes	3,437	± 555	2,978	± 636	—	—
Fijadores libres de Nitrógeno	11,840	± 3,012	21,081	± 6,222	**	—
Fijadores simbióticos de Nitrógeno (<i>Rhizobium trifolii</i>).	367	± 44	575	± 119	*	—
Celulolíticos aerobios	1,771	± 64	215	± 38	—	**
Reductores de sulfatos	1,077	± 140	501	± 135	—	**

Nota:

Suelo I = Con herbicida "Gesaprim 50".

Suelo II = Testigo (sin herbicida).

* = Diferencia significativa entre suelo testigo y suelo con herbicida (nivel de significatividad $P = 0.05$).

** = Diferencia altamente significativa entre suelo testigo y suelo con herbicida (nivel de significatividad $P = 0.01$).

En el suelo II (testigo), la máxima población correspondió, en orden decreciente, a las bacterias, los actinomicetos y, por último, dentro de la microflora total, a los hongos con la menor población. En cuanto a la microflora de actividad bioquímica específica, aparecen los microorganismos amonificantes en mayor abundancia, seguidos por las bacterias (libres) fijadoras de nitrógeno, microorganismos desnitrificantes, celulolíticos aerobios, *Nitrosomonas* spp. (estos últimos con una población ligeramente mayor a la de los reductores de sulfatos); siguen en menor población *Nitrobacter* spp. y, por último, *Rhizobium trifolii*.

Se pudo apreciar el efecto residual del herbicida en la microflora total y en grupos de actividad bioquímica específica, a excepción de los actinomicetos y microorganismos desnitrificantes.

En la Tabla 1 se aprecia que, al comparar las poblaciones de bacterias, hongos y de fijadores libres de nitrógeno del suelo I (tratado con el herbicida), con las poblaciones de esos mismos grupos microbianos detectadas en el suelo II (libre de herbicida), el suelo I mostró un incremento altamente significativo. Esto nos conduce a considerar que el efecto residual del herbicida se tradujo, para estos grupos microbianos, en un factor estimulante.

La población de *R. trifolii* del suelo I resultó incrementada en menor grado. No obstante, la diferencia entre los suelos I y II es estadísticamente significativa.

El efecto negativo del herbicida sobre los microorganismos del suelo se manifestó en la disminu-

ción de la población de algunos grupos (Tabla 1). A este respecto, las poblaciones de *Nitrosomonas* spp., celulolíticos y de reductores de sulfatos del suelo I (tratado con el herbicida) registraron, con respecto a las poblaciones del suelo II (sin herbicida), un decremento altamente significativo.

Las poblaciones de microorganismos amonificantes y de *Nitrobacter* spp. del suelo I, al compararlas con las del suelo II, se notan disminuidas en menor grado; no obstante, el decremento en población en estos grupos microbianos fue también estadísticamente significativo.

La población de *R. trifolii* resultó en ambos suelos considerablemente baja, en comparación con la de *R. phaseoli* (Tabla 3). La cuenta más alta de *R. trifolii* (268/g) se obtuvo con trébol berseem (*Trifolium alexandrinum*) en el suelo I, tratado con herbicida; y la menor (36/g) con trébol ladino (*Trifolium repens*), en ese mismo suelo.

Tanto con trébol rojo (*Trifolium pratense*) como con trébol berseem, se registró un ligero aumento en la población de *R. trifolii* del suelo I, a diferencia de lo que se detectó con trébol ladino, ya que con esta especie de trébol la cuenta de *R. trifolii* resultó mayor en el suelo II (testigo).

Las cuentas de *R. phaseoli* dieron cifras bastante elevadas. Las cuentas más altas se obtuvieron en el suelo I, en el cual se obtuvo la mayor población (31,831,630/g), con la variedad de frijol flor de mayo. La menor población (11,381,938/g), estimada en la variedad antes mencionada y en la canario 107, correspondió al suelo II.

Tabla 3.—Estimación de las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno atmosférico (número más probable por gramo de suelo seco).

Suelo	<i>Rhizobium trifolii</i> en:			<i>Rhizobium phaseoli</i> en:	
	T. ladino (<i>T. repens</i>)	T. rojo (<i>T. pratense</i>)	T. berseem (<i>T. alexandrinum</i>)	Var. canario 107 (<i>Ph. vulgaris</i> L.)	Var. flor de mayo (<i>Ph. vulgaris</i> L.)
Suelo I	36	137	268	12,096,021	31,831,630
Suelo II	156	81	105	11,381,938	11,381,938

Nota:

Suelo I = Con herbicida "Gesaprim 50"

Suelo II = Testigo (sin herbicida).

Por las características de la nodulación y el desarrollo de las plantas durante la cuantificación de *R. phaseoli*, se pudo observar que la mayor parte de la población nativa corresponde a cepas poco efectivas en la fijación del nitrógeno.

CONCLUSIONES

1.—Los suelos, objeto de este estudio, se caracterizaron por tener una población microbiana total baja, particularmente la que se relaciona con el ciclo del nitrógeno, similar a la reportada para suelos de origen volcánico o influenciados por material volcánico.

2.—Se detectó un efecto residual del herbicida "Gesaprim 50", aún después de seis meses de su aplicación en el campo. El incremento de la población de ciertos grupos microbianos del suelo se interpretó como un efecto positivo de este producto en el mismo. En orden decreciente, este incremento se estimó en: bacterias, hongos, fijadores (libres) de nitrógeno y, por último y en menor grado, en la población de *R. trifolii*.

3.—El efecto contrario, es decir, un decremento en la población, se observó en: *Nitrosomonas* spp., microorganismos celulolíticos, reductores de sulfatos, amonificantes y *Nitrobacter* spp. Este efecto, si llegara a manifestarse más drásticamente, podría relacionarse con una disminución de la velocidad de mineralización de la celulosa y del nitrógeno en el suelo.

4.—Los actinomicetos y microorganismos desnitrificantes no presentaron cambios significativos en su población por efecto de este producto.

5.—Los análisis microbiológicos y pruebas de invernadero realizados permiten concluir que, después de seis meses de la aplicación del herbicida "Gesaprim 50" con la dosificación especificada anteriormente, no se aprecian efectos residuales negativos de este producto que pudiesen ser un impedimento para el buen establecimiento de trébol o frijol en estos suelos.

6.—Por la baja densidad de población de *R. trifolii* y la escasa efectividad de la mayor parte de la población nativa de *R. phaseoli*, se estima necesaria la experimentación con inoculantes en estos suelos, a fin de incrementar los beneficios de la simbiosis, tanto en trébol como en frijol.

AGRADECIMIENTOS

A los M. en C. Nicolás Aguilera-Herrera, Mariano Villegas-Soto y Rubén Guajardo-Vieira, por la lectura crítica del manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Allott, D. J., 1969, The persistence of simazine applied annually in the prolonged absence of soil cultivation: *Weed Res.*, v. 9, p. 279-287.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), 1970, Official methods of analysis: Washington, D. C., Broad, William and Herwatz, 832 p.
- Barkworth, M., y Bateson, M., 1965, The population level of presumptive *Nitrosomonas* and *Nitrobacter* in some English soils: *Plant and Soil*, v. 22, p. 220-228.
- Bouyoucos, G. J., 1963, Directions for making mechanical analysis of soil by hydrometer method: *Soil Sci.*, v. 42, p. 25-30.
- Bray, H. H., y Kurtz, T. L., 1945, The determination of total organic and available forms of phosphorus in soils: *Soil Sci.*, v. 59, p. 439-445.
- Bunt, J. S., y Rovira, A. D., 1955, Microbiological studies of some subantarctic soils: *Jour. Soil Sci.*, v. 6, p. 119-128.
- Cole, M. A., 1976, Effect of long-term atrazine application on soil microbial activity: *Weed Sci.*, v. 24, p. 473-476.
- Chunderova, A. I., y Zubets, T. P., 1970, Effect of herbicides on nitrifying bacteria in sod-podzolic soils: *Leningrad Microbiol.*, v. 39, p. 774-777.
- Deshmukh, V. A., y Shrikhande, J. G., 1974a, Effect of pre- and post-emergence treatment of herbicides on soil microflora and two microbial processes: *Jour. Indian Soc. Soil Sci.*, v. 22, p. 36-42.
- 1974b, Effect of some herbicides on *Azotobacter* and non-symbiotic nitrogen fixation in the soil: *Indian Jour. Microbiol.*, v. 14, p. 81-82.
- Dirección de Estudios del Territorio Nacional (DETENAL), 1976, Carta Edafológica Tenango E-14-A-48, escala 1:50,000; México, D. F., Secretaría de Programación y Presupuesto.
- Dubos, R. J., 1928, The decomposition of cellulose by aerobic bacteria: *Jour. Bacteriol.*, v. 15, p. 223-234.
- Garassini, L. A., 1967, *Microbiología agraria*: Caracas, Univ. Central de Venezuela, 646 p.
- García, Enriqueta, 1973, Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, (para adaptarla a las condiciones de la Rep. Mexicana): México, D. F., Univ. Nal. Autón. México, Inst. Geografía, 245 p.
- Gobierno de Estado de México, 1971. Panorámica socio-económica en 1970; Toluca, Méx., t. 1, 696 p.

- Jackson, M. L., 1964, Análisis químico de suelos: Barcelona, Omega, 602 p.
- Jensen, H. L., 1942, Nitrogen fixation in leguminous plants; I. General characters of root-nodule bacteria isolated from species of *Medicago* and *Trifolium* in Australia: Proc. Linn. Soc. N. S. W., v. 66, p. 98-108.
- Joshi, O. P., Sachdev, M. S., Sahrawat, K. L., and Kohli, B. N., 1976, Effect of simazine and atrazine on the mineralization of fertilizer and manure nitrogen: Plant and Soil, v. 44, p. 367-375.
- Katznelson, H., 1946, The rhizosphere effect of mangles in certain groups of soil microorganisms: Soil Sci., v. 62, p. 343-354.
- Klingman, C. G., 1961, Weed control as a science: New York, Wiley & Sons, 421 p.
- Ladislav, S., 1976, The effect of the triazine and pyrimidin on microbiological processes: Univ. Comenianae, Acta Fac. Rerum. Nat., Microbiol., v. 4, p. 171-189.
- Libik, A. W., y Romanowsky, R. R., 1976, Soil persistence of atrazine and cyanazine: Weed Sci., v. 24, p. 627-629.
- Liu, L. C., y Cibes-Viade, H. R., 1972, Effect of various herbicides on the respiration of soil microorganisms: Univ. Puerto Rico, Jour. Agric., v. 56, p. 417-425.
- López, P. J., 1972, Introducción al estudio microbiológico de algunos suelos del volcán Ceboruco, Edo. de Nayarit: México, D. F., Univ. Nal. Autón. México, Fac. Ciencias, tesis profesional, 58 p., inédita.
- Martin, J. P., 1950, Use of acid rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi: Soil Sci., v. 69, p. 215-232.
- Mashtakov, S. M., Gurinovich, E. S., Zimenko, T. G., y Kabailova, I. V., 1962, Effect of herbicides on the soil microflora: Microbiol., v. 31, p. 67-70.
- McCrary, P. W., 1946, Standard methods of water analysis: Am. Pub. Health and Am. Water Assoc. eds., 9 ed., p. 131-138.
- Murray, R. S., 1961, Theory and problems of statistics: New York, Scheum, 359 p.
- Palacios, M. S., Sánchez, M. A., Aguilera, H. N., 1973, Contribución al conocimiento microbiológico de suelos de ando del Popocatepetl, Edo. de Morelos, México: Chapingo, México, Memorias del III Congreso Nal. de la Ciencia del Suelo, t. 1, p. 322-335.
- Rizwanul, H., y Freed, V. H., 1975, Environmental dynamics of pesticides: New York, Plenum Press, 387 p.
- Rubenchik, L. I., 1963, *Azotobacter* and its use in agriculture: Washington, D. C., U. S. Dept. Commerce, Israel Prog. Sci. Transl., 278 p.
- Spiridonov, Yu. Ya., y Yakovlev, A. I., Effect of symtriazines on cellulose decomposing soil microorganisms: Microbiol., v. 37, p. 115-118.
- Takai, M., Kazuofutaishi, T. I., y Yoichiro, O., 1975, Studies on the desintegration of a herbicide simazine in soil: Japan, Tamagawa Univ., Bull. Fac. Agriculture, v. 15, p. 52-59.
- Timonin, M. I., 1946, Microflora of the rhizosphere in relation to manganese deficiency disease of oats: Soil. Sci. Soc. America, Proc., v. 11, p. 284-292.
- Vega, R. E., y Villegas, S. M., 1978, Fertilización de maíz de temporal en suelos del Valle de Toluca, Estado de México: Toluca, Univ. Autón. Estado de México, Simposio Geográfico sobre Desarrollo Rural, abril 26-28, 1978.
- Vincent, J. M., 1970, A manual for the practical study of the root-nodule bacteria: Abingdon, Burgess and Son, Internal. Biol. Progr., Handbook 15, 164 p.
- Walkley, A., 1947, Critical examination for determining organic carbon in soils: Soil Sci., v. 63, p. 251-264.
- Wayland, J., y Hayes, Jr., 1975, Toxicology of pesticides: Baltimore, Williams and Wilkins, 580 p.
- Weber, J. B., Weed, S. B., y Waldrep, T. W., 1974, Effect of soil constituents on herbicide activity in modified soil field plots: Weed Sci., v. 22, p. 454-459.
- Zimadahl, R. L., Freed, V. H., Montgomery, M. L., y Furtick, W. R., 1970, The degradation of triazine and uracil herbicides in soil: Weed Res., v. 10, p. 18-26.