

27 - Sept. 1974

Ciencia

ASP² MICROBIOLOGICOS Y FISIOLOGICOS DE LA UTILIZACION DEL AZUFRE COMO FERTILIZANTE POR VIA FOLIAR

UNIVERSIDAD DE GRANADA

1974

Tribunal - Pres. Montoya
Voc. Recalde
" Guenara
" Planes
" Olivares } Día 27 - Sept. 1974
a las 13
Fac. de Farmacia

Calificación: Aprob. cum laude

D4-5-2

TD-EP

R. 12.022
R. 11.962

631.811.7 (043)
576 8 (043)

H-3
1
35

FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS Y FISIOLÓGICOS DE LA UTILIZACIÓN DEL AZUFRE
COMO FERTILIZANTE POR VÍA FOLIAR.

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
DOCUMENTO 613629591
ACORDA 15.682171

Visado en Granada a
30 de Julio de 1974
con el V^o B^o.

EL DIRECTOR

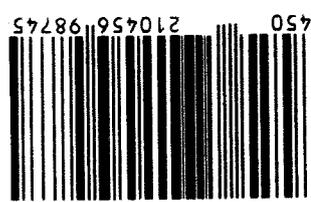
Fdo. José Olivares Pascual
Profesor de Investigación del
C.S.I.C. y Jefe de la Sección
de Microbiología de la Estación
Experimental del Zaidín. Granada.

Memoria presentada para
aspirar al grado de DOC-
TOR EN FARMACIA.

Granada, 30 de Julio de 1974

Carmen Lluch

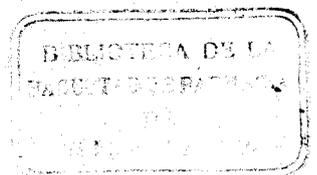
Fdo. Carmen Lluch Plá
Lda. en Farmacia.



BIBLIOTECA DE LA
FACULTAD DE FARMACIA
GRANADA

La Memoria que presentamos ha sido realizada en la Estación Experimental del Zaidín, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Sección de Microbiología.

Su realización ha sido posible gracias a las becas que nos fueron concedidas por el Plan de Formación del Profesorado y Personal Investigador.



Mi sincero agradecimiento al director de esta Tesis Dr. D. José Olivares Pascual, Profesor de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Jefe de la Sección de Microbiología de la Estación Experimental del Zaidín. Su gran ayuda y constante orientación han hecho realidad este trabajo. Sus valiosas enseñanzas y amplio significado de la investigación han servido de base en mi formación científica.

Extiendo mi agradecimiento al Dr. D. Manuel Gómez Ortega, Investigador Científico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, por su continuo apoyo y colaboración que han sido de gran utilidad.

Agradezco al Prof. D. Luí́s Recalde Mart́ńez, Director de la Estacíon Experimental del Zaid́n, la gran acogida dispensada para la realizacíon de este trabajo, sus indicaciones e inteŕes seguido en su evolucíon.

Mi agradecimiento a las Srtas. Ĺpez-Ferńandez, Herńandez-Mart́ńez, Mart́n-Caballero y Mart́ńez-Becerra, aś como a los Sres. Mart́ńez y Melgar, por su colaboracíon t́cnica.

A todos mis compáneros de la Seccíon y de la Estacíon Experimental del Zaid́n que en alguna forma han contribuido a llevar a cabo este trabajo.

No quisiera terminar sin recordar a D. Vicente Callao Fabregat, sabio y paternal maestro que prendío en ḿ el camino cient́fico.



A mis padres



INDICE

OBJETO DEL TRABAJO.....	5
PLAN DE TRABAJO.....	9
INTRODUCCION.....	13
Importancia del azufre como nutriente de plantas.....	15
Deficiencias de azufre.....	20
Deficiencias de azufre en plantas.....	21
Deficiencias de azufre en suelos.....	24
Fuentes de azufre para las plantas.....	26
Azufre suministrado en agua de riego y lluvia.....	26
Azufre como pesticida o plagicida.....	27
Azufre atmosférico.....	27
Azufre en el suelo.....	29
Azufre como fertilizante.....	32
El ciclo del azufre.....	39
Aspectos microbiológicos de la utilización del azufre como fertilizante.....	47
MATERIAL Y METODOS.....	51
1. Material.....	53
1.1 Suelos utilizados.....	53
1.2 Plantas utilizadas.....	53
1.3 Productos químicos, material de laboratorio y de invernadero.....	54
2. Métodos.....	54
2.1 Experiencias de laboratorio.....	54
2.1.1 Preparación e incubación de suelos.....	54
2.1.2 Determinaciones prácticas.....	55
2.1.2.1 Físicas y químicas.....	55
2.1.2.2 Análisis microbiológicos.....	56
2.2 Experiencias en invernadero.....	59
2.2.1 Estudios previos de las experiencias en invernadero.....	59
2.2.1.1 Diseño experimental.....	59
2.2.1.2 Condiciones ambientales..	60
2.2.1.3 Preparación de las macetas.....	60
2.2.1.4 Tipo de suelo y materia orgánica.....	61
2.2.2 Periodos de cultivo.....	61
2.2.2.1 Germinación.....	62

2.2.2.2	Crecimiento y desarrollo.	62
2.2.3	Tratamientos.....	62
2.2.3.1	Pulverizaciones con azu- fre.....	63
2.2.3.2	Inoculación bacteriana...	64
2.2.4	Determinaciones practicadas.....	65
2.2.4.1	En suelo; Microbiológicas	65
2.2.4.2.1	Fisiológicas...	69
2.2.4.2.2	Analíticas.....	70
2.2.4.2.3	Clorofíla.....	70
2.2.4.2.4	Nodulación.....	71
2.2.4.2.5	Aminoácidos.....	72
RESULTADOS.....		73
1.	Resultados de las determinaciones realiza- das en los suelos de partida y en experien- cias de incubación.....	75
1.1	Determinaciones no biológicas.....	75
1.1.1	Humedad equivalente.....	75
1.1.2	Contenido en materia orgánica....	75
1.1.3	Contenido en azufre asimilable...	77
1.2	Determinaciones microbiológicas.....	77
2.	Experiencias de invernadero.....	92
2.1	Experiencias tipo A.....	92
2.1.1	Determinaciones microbiológicas..	92
2.1.2	Determinaciones fisiológicas.....	101
2.2	Experiencias tipo B.....	104
2.2.1	Determinaciones microbiológicas..	104
2.2.2	Determinaciones fisiológicas.....	121
2.2.2.1	En rábano.....	121
2.2.2.2	En judía.....	134
2.2.3	Determinaciones analíticas.....	153
2.2.3.1	En rábano.....	153
2.2.3.2	En judía.....	164
2.3	Experiencias tipo C.....	180
DISCUSIÓN.....		183
CONCLUSIONES.....		207
BIBLIOGRAFIA.....		211

O B J E T O D E L T R A B A J O

OBJETO DEL TRABAJO

La importancia del azufre en la nutrición de las plantas ha sido claramente puesta en evidencia en la abundante literatura aparecida desde los trabajos de Lipman (1916). Sin embargo, la utilización de este elemento en forma de pulverización, solo ha sido dirigida al tratamiento contra ciertas plagas en algunas especies vegetales, no encontrándose apenas bibliografía referente al aprovechamiento por vía foliar del azufre pulverizado.

Recientemente ha sido observado que la cosecha obtenida en olivos tratados con azufre en polvo, cuando se utiliza en ciertos estados fisiológicos de la planta, se incrementa hasta en un treinta por ciento sobre la correspondiente a los árboles no tratados (Recalde y Martin, 1968). Independientemente del papel que este elemento puede representar como material inerte sobre la superficie de las hojas de las plantas tratadas, estos resultados tienden a apoyar la tesis mantenida por algunos autores (Turrell, et al., 1955; Recalde, 1971) de que el empleo de azufre como fertilizante por vía foliar puede ser de gran utilidad para corregir deficiencias en este elemento. Sin embargo hay que tener presente que una parte considerable del azufre pulverizado cae al suelo y después de su transformación, en su mayor parte microbiológica, queda en forma susceptible de ser absorbido por las raíces de la planta y dar lugar además a una alteración más o menos permanente del equilibrio mineral y microbiano del suelo.

Si bien con un adecuado diseño experimental se puede poner de manifiesto la importancia de la nutrición para cada una de las dos vías, foliar y radical, se ha pretendido estudiar en este trabajo el papel que juega la microflora del azufre, activada por la presencia del substrato específico, en la nutrición de las plantas, bien utilizado con vistas al tratamiento de ciertas enfermedades o simplemente como fertilizante foliar.

Asimismo, como consecuencia, se ha tratado de seguir la evolución de las actividades amonificante y nitrificante, tan importantes en la utilización del nitrógeno presente en la materia orgánica y que de una u otra manera pueden verse afectadas como resultado de la alteración del equilibrio biológico provocado por la activación de un de-

terminado grupo microbiano.

Con objeto de poner en evidencia la posible importancia de la caída del azufre al suelo, se ha realizado, paralelamente al estudio microbiológico, la medida de una serie de parámetros, unos fisiológicos y otros analíticos, en las plantas utilizadas en experiencias de invernadero. Se eligieron una crucífera de altos requerimientos en azufre y una leguminosa de exigencias medias y fueron siempre comparados dos lotes según se permitiera o no la caída al suelo del azufre pulverizado,

Pero antes de llevar a cabo esta investigación con plantas, se ensayaron en el laboratorio varios tipos de suelos bien definidos para observar las respuestas de las actividades sulfooxidante y sulfatorreductora a la adición de azufre y materia orgánica, con el fin de elegir, de acuerdo con los resultados obtenidos, aquel que mejor conviniera a las experiencias programadas.

Es evidente que las condiciones en que se ha realizado la experiencia son bastante diferentes a las que normalmente se dan en la naturaleza, especialmente en cuanto a humedad y temperatura, adecuadamente controladas se refiere, y por tanto con suelos con actividad microbiana potencialmente desarrollable a lo largo del ciclo vegetativo de la planta. Sin embargo, los resultados aquí obtenidos y las conclusiones deducidas de la correspondiente discusión pueden servir para poner de manifiesto la utilidad del empleo del azufre en forma de fertilizante foliar, por lo menos en el tipo de plantas empleadas en este estudio, y deducir lo que puede ocurrir en otra clase de vegetales desarrollados en condiciones subóptimas para el desarrollo de una buena actividad microbiana.

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

P L A N D E T R A B A J O

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

... ..

PLAN DE TRABAJO

De acuerdo con el objeto expuesto se estableció el plan de trabajo desarrollado en los siguientes puntos:

1. Estudio bibliográfico de la importancia de la fertilización de las plantas con azufre y de la posibilidad de su uso por vía foliar.
2. Determinación en varios tipos de suelos de la respuesta de la flora microbiana del azufre a la adición de este elemento, de materia orgánica y de los dos conjuntamente, para elegir, de acuerdo con dicha respuesta y con la naturaleza química y física del suelo, aquel con el que desarrollar las experiencias con plantas.
3. Experiencias con plantas de invernadero.
 - 3.1 Elección de las especies vegetales adecuadas al estudio.
 - 3.2 Forma de llevar a cabo los tratamientos.
 - 3.2.1 En distintas fases del estado fisiológico de las plantas.
 - 3.2.2. Tratamientos acumulativos
 - 3.3 Estudio microbiológico del suelo
 - 3.3.1 Microflora del azufre
 - 3.3.2 Actividades amonificantes y nitrificantes
 - 3.4 Determinaciones fisiológicas y analíticas en las plantas.

INTRODUCCION

Una vez conocidos los objetivos perseguidos con este trabajo y antes de entrar en el capítulo de material y métodos, se ha pretendido recoger en la introducción de esta memoria, la información necesaria para exponer la importancia que presenta el azufre en la nutrición de las plantas, su disponibilidad en las distintas formas, determinadas en gran parte por la actividad microbiana del suelo y los diferentes aspectos microbiológicos relacionados con la utilización del azufre como fertilizante.

IMPORTANCIA DEL AZUFRE COMO NUTRIENTE PARA LAS PLANTAS

Aunque cuantitativamente el azufre es conceptuado como uno de los macronutrientes requeridos por los vegetales, su importancia como tal, ha estado enmascarada por mucho tiempo a causa de su aplicación al suelo como componente no reconocido de los fertilizantes tanto orgánicos como inorgánicos.

Además de formar parte de la molécula de cisteína, -cistina y metionina, aminoácidos esenciales constituyentes de las proteínas y de gran transcendencia biológica, es átomo integral de la molécula de ciertas vitaminas y otras sustancias fundamentales para la vida.

Cuando las plantas no encuentran suficiente azufre asimilable, se reducen los rendimientos de las cosechas tanto cuantitativamente como cualitativamente. Los suelos que originalmente contienen niveles óptimos de azufre llegan a ser a menudo deficientes cuando los cultivos son intensificados, a menos que, sean utilizados fertilizantes conteniendo este elemento.

En los últimos años se han descrito en la bibliografía

fía universal, deficiencias de azufre en numerosas áreas agrícolas (Freney, et al., 1962; Walter, 1964; Martín, --- 1965; Beaton, 1966; Coleman, 1966; Martín, et al., 1966). Esta situación refleja la imperiosa necesidad de utilizarlo en forma de abonado.

Su carencia se ha puesto de manifiesto como consecuencia de varios hechos, que pueden ocurrir aislados o conjuntamente:

a) El empleo de fertilizantes NPK de alta graduación esencialmente libres de azufre.

b) El incremento de las cosechas merced al uso de fertilizantes o al empleo de variedades de plantas, que exigen una mayor absorción de azufre para guardar el correspondiente equilibrio nutritivo.

c) La falta de aplicación de materia orgánica. El 90% de azufre del suelo puede estar en forma de materia orgánica (Kelly, 1972).

d) El consumo de combustibles de bajo contenido en azufre, exigido en las medidas de control de la contaminación ambiental, que disminuye el contenido de anhídrido sulfuroso en la atmósfera.

El papel del azufre en el metabolismo de las plantas, ha sido objeto de intensos estudios por ser un tema atractivo y con numerosos aspectos todavía desconocidos, lo que representa un cierto retraso si se compara con los conocimientos que se tienen sobre el metabolismo del carbono, nitrógeno e incluso del fósforo. Este retraso se debe sin duda, entre otras causas, a la peculiaridad del elemento de encontrarse en diversos estados de valencia característica si bien común con el nitrógeno, es aquí más acusada, y a la relativa inestabilidad de sus compuestos. Martín-Prevel (1972), llegó a la conclusión que el azufre es un macronutriente, con una concentración en los tejidos de plantas similar a la del magnesio y fósforo.

Interviene el azufre en numerosas funciones de la nutrición y del metabolismo de las plantas, jugando un doble papel de elemento plástico y catalítico, por formar parte de enzimas, vitaminas y cofactores imprescindibles en el -

desarrollo de la vida vegetal.

Es posible, dividir estas funciones en una serie de apartados para dar una idea de la amplitud de su interven^{ción} y del alcance de la misma:

i.- Síntesis de aminoácidos azufrados: cisteina, cistina y metionina, presentes en la mayor parte de las pro--teínas vegetales.

ii.- Síntesis de vitaminas y cofactores tales como -tiamina, requerida en la descarboxilación de alfa-cetoácidos; biotina, que interviene en la fijación del anhídrido carbónico; glutatión, requerido para la conversión del metil-glioxal en ácido láctico y en la oxidación de las triosa fosfato; coenzima A de tan amplia intervención en el -metabolismo celular (Allaway y Thompson, 1966; Freney, --1967).

iii.- Síntesis de la clorofila aún cuando no forma --parte de su molécula (Blair, 1971).

iv.- Estimulación en la fijación del nitrógeno en leguminosas (Vithos, 1972), quizás por intervenir en la formación del enzima nitrogenasa (Bixby & Beaton, 1970), aunque parece ser que el papel jugado es más complejo (Oke, 1968).

La fertilización del azufre puede tener un efecto --pronunciado no sólo en la cantidad sino en la calidad (Deloch & Bussler, 1965), de la cosecha y de hecho cuando esta última es factor limitante, la importancia de incluir el azufre en la fertilización programada no puede ser marginada. Los factores de calidad que son afectados por la fertilización con este elemento son entre otros: el contenido en proteínas, en nitrógeno como nitrato o como nitrógeno no protéico, en vitamina A, en carotenos, etc.

El problema de la mala nutrición debido a la carencia y baja calidad de las proteínas vegetales, ha sido descrita ampliamente por diversos autores (Allaway y Thompson, -1966; Scrimshaw, et al., 1961; Aroka, 1971). En muchos casos los aminoácidos azufrados constituyen un factor limi--tante en la formación de las proteínas por los vegetales - (Block y Bolling, 1951). Varios han sido los trabajos rela

cionados con la fertilización del azufre y la calidad de las proteínas. Coic, et al. (1962) en experiencias en mace~~tas~~, observaron que el contenido en metionina y cisteina ~~disminuía~~ en condiciones deficientes de azufre en un 9 y 38 %, respectivamente. Sheldon, et al. (1951) encuentran un definido incremento en la metionina en experiencias con soja cuando era añadido azufre a los suelos deficientes en este elemento. Las plantas con un suministro adecuado de azufre, pueden contener una cantidad de proteína mayor que sin éste (Walsh y Hoelt, 1971). Tomando la cantidad de metionina presente en la proteína como medida de calidad proteica, el efecto del incremento en este aminoácido es observado por: Tisdale, et al. (1950); Mertz, et al. (1952); Bardsley y Jordan (1957); Saalbach, et al. (1961); Saalbach (1966) estudia la fertilización del azufre sobre los diez aminoácidos esenciales, Dube, et al. (1970); Bamberg (1973) y Sharma, et al. (1973).

Entre otros factores influenciados por la fertilización con azufre, se puede citar: la clorofila. Thomas, et al. (1950) describieron que la clorofila en hoja de alfalfa se reduce un 40 % en plantas deficientes en este elemento, por lo que Coic (1961) sugiere que la fotosíntesis es reducida. El contenido en vitamina A (Needham y Hauge, 1952) y en carotenos de distintas especies vegetales (Beaton, et al., 1971; Fomin, et al., 1972), también se ven afectados en el mismo sentido.

Así mismo, la calidad del grano de los cereales (Newton, et al., 1959) mejora y el contenido en aminoácidos azufrados en semillas de judía se incrementa (Aroka y Luthra, 1971) cuando se aumentan los niveles de azufre en el suelo. Si la aplicación es combinada con nitrógeno y fósforo, se eleva la cifra de nitrógeno total, nitrógeno proteico y nitrógeno soluble total, disminuyendo el nitrógeno amoniacal, como nitrato y como nitrógeno no proteico (Randall, 1969; Aroka y Luthra, 1971). También se han descrito incrementos lípidos en judía (Venema, 1961).

El metabolismo del nitrógeno y del azufre están relacionados muy íntimamente (Eaton, 1941). En suelos con bajo contenido en azufre el crecimiento de las leguminosas es pobre y muestran síntomas de deficiencias en nitrógeno. Si no hay síntesis de proteínas en las plantas, el nitrógeno se acumula en forma de compuestos conocidos como NNP (ni--

trógeno no protéico), anteriormente mencionados (Cowling, et al., 1971), y el S se acumula como S-orgánico no protéico (Kirkby, 1970). Se sabe de hecho, que contenidos elevados de nitrógeno e inadecuados niveles de azufre, dan lugar a un acúmulo de nitratos repercutiendo en un desequilibrio protéico en la nutrición de los animales. Un adecuado equilibrio de nitrógeno y azufre deberá mantenerse para -- asegurar una buena fertilización (Coic, 1961; Wooding, et al., 1971).

Stewart (1966), determina una relación directa entre el nitrógeno y el azufre inmovilizado durante la descomposición de los residuos vegetales, entre el nitrógeno y el azufre mineralizado de la materia orgánica del suelo y entre el nitrógeno y el azufre requerido por las plantas para la síntesis de proteínas, por lo que una deficiencia de azufre en alguna de estas tres funciones puede afectar la relación nitrógeno/azufre de las dos restantes.

El efecto del azufre en la nodulación de las raíces de leguminosas ha sido tratado en diversos trabajos. Oke, (1968), con guisantes demostró que el azufre es un nutriente esencial en la nodulación. El número de nódulos, su contenido en nitrógeno y el peso de los mismos aumenta significativamente cuando el azufre estaba presente en cantidad suficiente. Este efecto era más pronunciado en ausencia de nitrógeno. Gaw y Soong (1942), estudiaron el aumento de nódulos producidos en judía, Chirilei, et al. (1966), en habas, Bhardwaj, et al. (1968), en raíces de cacahuete y Wooding (1970) en soja, observando siempre el mismo efecto.

La aplicación de fertilizantes azufrados pueden corregir las deficiencias de nitrógeno en judía (Vitosh, 1972), bien porque afecta a la nitrificación del suelo, en tal extensión, que pueda ser eliminado el abonado nitrógeno o bien, según Oke (1968), debido a que las deficiencias de azufre impiden a la planta hacer uso total del nitrógeno disponible afectando así al metabolismo protéico.

Otros efectos beneficiosos del azufre como fertilizante en la agricultura son:

- Una mayor duración de las legumbres y otros vegeta-

les. Numerosos ensayos demostraron que por la aplicación de azufre se incrementa la estabilidad durante el cultivo de la alfalfa, trebol y cesp ed de jardín (Beaton, et al., 1971).

- Aumento a la resistencia, a las condiciones clim aticas adversas. Se ha observado que la mortalidad de las semillas jóvenes, disminuye con la fertilización de este elemento (Seim, et al., 1969). Algunas especies vegetales muestran una relación directa entre el número de grupos sulfhidrilos en las proteínas de la planta y la resistencia a las heladas. Igual efecto se ha observado frente a la sequedad (Tisdale, 1971).

- Control de las enfermedades. Considerando este problema en agricultura como grave, de nuevo el azufre ejerce una influencia favorable, disminuyendo la incidencia de ciertos microorganismos como sucede en el caso de las patatas atacadas por el Actinomyces scabei debido a la disminución del pH del suelo (Clark, et al., 1957; McCready, 1969). Los estudios realizados recientemente por Netolizky y Skoroped (1971), demuestran que los grupos sulfhidrilos inhiben la formación del aprensorio del hongo (Colletotrichum graminicola), con esta inhibición se reduce en parte, el peligro causado por la antracnosis que ataca a diversas especies de cultivos.

- Mejora la descomposición de los residuos de cosechas. La lenta degradación de los residuos vegetales puede ser un problema bajo ciertas condiciones. Aunque existen pocos datos, hay evidencias de que los productos azufrados pueden acelerar la descomposición de tales residuos (Beaton, et al., 1971).

- Activación de la maduración de las cosechas. Demostrado en experiencias con maíz, cebada y avena (Beaton, et al., 1971; Nyborg y Bentley, 1971).

DEFICIENCIAS DE AZUFRE.

La necesidad de la fertilización con azufre depende de su cantidad presente en el suelo, acumulado por las lluvias, aguas de riego, residuos de cosechas anteriores, reservas naturales y las pérdidas de azufre por lixiviación y otras causas tratadas más adelante. Las características

del suelo pueden ser útiles para averiguar esta necesidad, ya que aunque los síntomas visuales de la deficiencia no sea patente, la respuesta de la cosecha a la fertilización con azufre es importante; así, un suelo conteniendo materia orgánica en cantidad insignificante, de textura gruesa, bien drenado, fácilmente será deficiente en este elemento, aunque no se limiten los suelos deficientes a estas características.

Deficiencias de azufre en plantas.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la falta de fertilización con este elemento supone una serie de deficiencias, que se ponen de manifiesto por medio de síntomas que, si a veces están bien caracterizados, no siempre son síntomas distinguibles y con frecuencia pueden ser confundidos con las deficiencias de nitrógeno, relativamente similares.

Se puede establecer una clasificación de las plantas, según sus requerimientos de azufre en tres grupos (Jordan y Ensminger, 1958).

1.- Cultivos que necesitan grandes cantidades de azufre. Tienen un período de crecimiento relativamente corto y de ahí que el suministro de azufre utilizable sea especialmente importante. Pertenecen a este grupo la cebolla, el nabo, el rábano, la col., etc., en general las crucíferas. Son plantas con gran cantidad de heterósidos azufrados (Coic, 1961) compuestos orgánicos volátiles (Stewart, 1966) y compuestos flavonoides (Freeman, 1972).

2.- Con unas necesidades intermedias se encuentran -- agrupadas las leguminosas, que lo requieren a causa de su gran actividad en la síntesis de proteínas (Coic, 1961), el algodón, las quenopodiáceas, umbelíferas, etc. (Anstett, 1972).

3.- El maíz, el trigo y otras especies de gramíneas -- de la familia de las compuestas son menos exigentes particularmente cuando el cultivo se desarrolla a niveles moderados de nitrógeno. En general, se incluyen en este grupo también los cereales con unas necesidades más bien moderadas (Tserling, 1972).

Casos menos graves de deficiencia de azufre, pueden pasar totalmente inadvertidos, a menos que se realicen pruebas "in situ" para comprobar la respuesta del azufre aplicado sobre el cultivo.

Los análisis de suelo, en cuanto a azufre se refieren, aunque no facilitan siempre una indicación exacta, de la disponibilidad de dicho elemento, pueden servir como guía para aconsejar la fertilización de azufre. El análisis foliar puede ser frecuentemente de gran valor, para determinar si hay o no deficiencias de este elemento (Martín, 1965; Beaton, et al., 1971; Hanley, 1972).

Síntomas de deficiencias.

- 1.- Plantas pequeñas con tallos cortos y delgados, se manifiestan en los períodos primeros de crecimiento (Coic, 1961).
- 2.- Desarrollo tardío y maduración a menudo retrasada, especialmente en cereales y otras especies (Pathak, et al., 1968).
- 3.- Clorosis. En la mayoría de las plantas el color verde varía de verde claro a amarillo (Deloch y Bussler, 1965; Grant, et al., 1970). A veces llega a tonos color pardo (Coic, 1961). En plantas tales como tabaco, cítricos y algodón puede darse el caso de que las hojas viejas se vean afectadas primero, debido quizás a que el azufre es poco móvil. El tono amarillo de las hojas se confunde normalmente con las deficiencias de nitrógeno (Pethiyagoda y Krishnapillais, 1970). En sorgo y maíz se pueden confundir con las deficiencias de hierro y magnesio. Además, puede ocurrir una disminución del tamaño de la superficie foliar.
- 4.- Muy característico es el llamado "net veining", - particularmente en hojas jóvenes. Mientras el limbo toma un notable color amarillo, los nervios aparecen como finas ramificaciones verdes oscuras, quedando los espacios internerviales amarillos (Pethiyagoda y Krishnapillais, 1970).
- 5.- Los brotes asumen un color primordialmente amarillo resultando más pequeños y delgados (Ergle y Eaton, 1951).
- 6.- A veces los frutos no llegan a madurar totalmente

y presentan un color verde claro (Platou, 1969; Beaton, et al., 1971).

7.- En leguminosas disminuye el número y peso de nódulos formados (Duley, 1916; Ivanoff, 1948; Anderson y Spencer, 1950; Ashford, et al., 1961).

8.- En algunas plantas deficientes en azufre, se desarrollan pigmentos antociánicos. Hilder y Spencer (1954), observaron en Medicago sativa pigmentos purpurosos y pardos.

9.- Si la deficiencia permanece por largo tiempo, -- las hojas amarillas presentan necrosis en los márgenes con la subsiguiente defoliación.

Los resultados de las experiencias de Gaur, et al. - (1971), mostraron que la aplicación de azufre iba significativamente mejor que el hierro para prevenir la clorosis incipiente en hojas de cereales en suelos alcalinos, incrementando la producción del grano en un 25-30 %. Las hojas de las plantas fertilizadas con productos que suministran hierro llegaban a ser cloróticas aún cuando contenían elevados niveles de este elemento. Sugiere este hecho, que la clorosis era debida a la inactivación del hierro, que era prevenida por la aplicación de azufre. Este elemento parece evitar tal inactivación química del hierro, bien bajando el pH (Rogers y Shive, 1932), ya que se ha encontrado que el hierro se acumula normalmente en regiones -- donde el pH es alto, bien impidiendo la formación de sustancias que pueden acomplejarlo separándolo del medio, o bien proporcionando unas condiciones de equilibrio nutritivo mejor (Singh, 1970). Singh y Gupta (1968), obtuvieron un control de la clorosis del arroz en suelos alcalinos -- por la aplicación de azufre. Gupta (1970), observó que la clorosis empieza a los veinte días de germinación y se agrava con la edad. Las hojas jóvenes son afectadas gradualmente, pero al final toda la planta llega a ser clorótica. La aplicación de azufre reduce la mortalidad de la semilla. -- Brown (1961), sugirió que la clorosis no sólo es causada -- por la incapacidad de la planta de obtener hierro del suelo, sino por una inactivación de éste después de ser absorbido por la planta, pudiendo ser inmovilizado como fosfato-férrico (Olsen, 1935; DeKock, 1955).

Deficiencias de azufre en suelos.

El uso de azufre para la mejora de suelos alcalinos - fué sugerido por Lipman, et al. (1916). Bertrand, et al. (1927) llamaron la atención a los agrónomos sobre la importancia del azufre en el suelo debiendo ser considerado con el mismo interés que el nitrógeno, potasio y fósforo. Demostraron que el azufre contenido en la planta no dependía sólo del azufre disponible o utilizable en el suelo, sino del nivel requerido por las distintas especies vegetales.

Las deficiencias de azufre en el suelo parecen ocurrir como resultado de las interacciones entre varios factores como son: el clima, el suelo mismo, las necesidades de las plantas y la complejidad del ciclo del azufre con sus numerosas combinaciones más o menos estables (Dawson, 1969).

Entre los factores climáticos podemos citar la temperatura, la lluvia, proximidad al mar, densidad de la contaminación atmosférica, época estacional, etc. (Jensen, 1963). Anstett (1972), explica la "clorosis primaveral" relacionándola con las deficiencias de azufre temporal debida a la poca capacidad de la mineralización del azufre en esta época. Entre los factores pedológicos, que pueden perjudicar la liberación de azufre útil para las plantas, son la textura, profundidad, impermeabilidad del suelo, etc. (Concari, 1972). Hay suelos que no pueden suministrar a la planta el azufre necesario aunque se encuentre en cantidad suficiente, por la abundancia de caliza, gran contenido en hierro y en materia orgánica con baja proporción de mineralización.

Otra condición que incide en la deficiencia de azufre en el suelo es la relación aniónica. Se sabe que la capacidad de retención de los iones en el suelo $PO_4^{3-} > SO_4^{2-} > NO_3^-$. Sin embargo, la movilidad del sulfato es mayor que la del ión nitrato en determinadas condiciones, por lo que puede ser eliminado fácilmente.

Hanley (1972), realizó una exhaustiva experiencia en diversos suelos con gran cantidad de análisis y factores y concluyó que los principales suelos deficientes en azufre son: tierra parda, podzol-pardo, turbas y podzol-pardo-gris.

Eliminación del azufre en el suelo.

1.- Sustraído por las plantas. Hart y Peterson (1911) fueron los primeros que llamaron la atención sobre la apreciable cantidad de elementos nutritivos del suelo que eran eliminados por el cultivo. El azufre contenido en la cosecha es perdido por el suelo y sólo devuelto parcialmente en los residuos de las mismas, o en los subproductos animales (Radet, 1966; Decau, 1972) en trabajos sobre aportes y eliminaciones de azufre en varios suelos cultivables obtienen los mismos hechos.

El contenido de azufre en los vegetales varía según especies y según órganos. En general, la parte aérea es -- más rica en azufre que las enterradas en el suelo y dentro de la parte aérea, tienen mayor contenido en azufre las zonas asimiladoras (Anstett, 1972). En los cultivos de leguminosas, normalmente, la parte comercial representa el 90 % del azufre total en la planta, el residuo que subsiste de las cosechas, restituye algo de azufre, pero hay que tener en cuenta que, como sulfato el suelo no tiene mucho poder de retención, sino que ha de almacenarse como forma orgánica y el proceso de mineralización de los residuos de cosechas hortícolas es bastante rápido.

2.- Lixiviación. El azufre no está sujeto a pérdidas por lavado si no es oxidado, ya que es insoluble en agua - (McKell, 1965). Los estudios de Hingston (1959), demostraron que el sulfato puede ser eliminado prontamente por lixiviación. En algunos casos el azufre se lixivia a ras del suelo y puede ser retenido debajo del perfil por una capa de arcilla (Ensminger, 1954; Jordan y Ensminger, 1958). La lixiviación puede ser también lateral en vez de vertical, si hay debajo una capa impermeable (Barrow, et al., 1959). En suelos provistos de azufre, bien natural o bien de fertilizantes, las pérdidas son más moderadas. Según Jordan y Ensminger (1958) las pérdidas son menores en suelos cultivados que en suelos vírgenes. Las pérdidas como sulfuro se pensó que eran significativas en ciertos suelos y en -- estuarios de los ríos, pero este mecanismo de pérdida es -- improbable que tenga lugar en suelos bien drenados y que -- además contengan carbonato cálcico libre. Bromfields (1953) encontró que el sulfuro era retenido en estas condiciones.

Las pérdidas de azufre por este mecanismo, se acentúan con la poca profundidad del suelo y con una permeabilidad

alta (Concaret, 1972). Las pérdidas son elevadas en suelos de actividad biológica normal y por lo tanto en cultivos anuales que dejan al suelo desnudo durante el invierno, -- por lo contrario las pérdidas son débiles en cultivos de actividad biológica limitada como en los perennes (Gachon, 1972).

3.- Insolubilización del azufre. En forma de sulfato de hierro o de bario (Radet, 1966). Según Burns (1967), el azufre es rápidamente lixiviado desde los horizontes superiores, de lo contrario, al estado de sulfato, puede ser fuertemente adsorbido por los horizontes inferiores en diversos suelos, especialmente en aquéllos que contienen --- gran cantidad de arcilla caolinítica o hidróxidos aluminicos y óxidos de hierro.

4.- Erosión. Los suelos cultivables continuamente sufren pérdidas por erosión (McHargue, et al., 1921). Una importante parte de las reservas de azufre se encuentran en la fracción orgánica, la cual es abundante en la superfi--cie del suelo, siendo el potencial de pérdida bastante considerable.

FUENTES DE AZUFRE PARA LAS PLANTAS.

A. AZUFRE SUMINISTRADO EN EL AGUA DE RIEGO Y LLUVIA.

Las aguas de río y riego aportan en suspensión o en solución importantes materiales minerales, las partículas en suspensión se depositan en el suelo como limo, mientras que los elementos solubles se unen a aquéllos presentes en solución en el suelo. Entre éstos están los cationes: Ca, Mg y Na y los aniones: SO_4^- , Cl^- , CO_3H^- . Estos sulfatos -- según Gouny (1972) contribuyen a cubrir las necesidades -- de las plantas. La cantidad de sulfato en las aguas de riego varía según las regiones. En zonas áridas el sulfato disuelto es suficiente para los cultivos mientras en las regiones templadas su contenido es menor, pero siempre dependiente del tipo de roca que constituye el lecho del río y del grado de contaminación de éste.

El nivel de sulfatos en los ríos es bajo en las pro--ximidades del nacimiento y aumenta a medida que el caudal crece con las aguas de drenaje procedente de otras zonas -- cultivadas y fertilizadas.

B. AZUFRE COMO PESTICIDA O PLAGUICIDA.

El azufre para espolvoreo y otros materiales que lo contienen, como la mezcla sulfo-cálcica, fueron los primeros productos químicos conocidos contra las plagas y durante cierto tiempo estuvieron entre los fungicidas de más amplio uso. Parte de la pulverización y del espolvoreo cae al suelo suministrando así elemento nutritivo para la planta y parte de éste puede entrar directamente a través de las hojas en la nutrición de la planta (Turrell y Weber, 1955; Cimanowski, 1972).

Recientemente, sin embargo, los plaguicidas orgánicos han sustituido a las fórmulas a base de azufre. Los tiocarbamatos, phtalimidas, ditiofosfatos, aunque también contienen azufre, la cantidad aplicada en total es muy pequeña, presentando, por consiguiente, poca importancia en el conjunto de fertilización de este elemento (Viel y Leroux, 1972).

C. AZUFRE ATMOSFERICO.

La superficie foliar de la planta y la superficie del suelo pueden adsorber el azufre localizado en la atmósfera. Por ello las concentraciones de azufre en ésta se pueden relacionar con la nutrición de los vegetales. La mayor parte de este elemento se encuentra en la forma de anhídrido sulfuroso.

Thomas y Hendricks (1943), indican que el anhídrido sulfuroso puede ser absorbido por las hojas de una manera menos eficaz que las raíces absorben el sulfato, en presencia de una elevada concentración de sulfatos en la solución nutritiva. Las fumigaciones débiles, aunque prolongadas de anhídrido sulfuroso, no modifican el pH del jugo celular en hojas, cuyas bases orgánicas ejercen un efecto tampón y el anhídrido sulfuroso absorbido sería transformado en cisteína y compuestos orgánicos solubles (Thomas, et al., 1944).

Fried (1948), en ensayos basados en experiencias anteriores, pero más rigurosamente realizadas, al evitar el contacto del anhídrido sulfuroso en el medio de crecimiento a donde podría pasar y ser oxidado a sulfato, por aislamiento de las raíces de las partes aéreas o superiores, llega a los mismos resultados que sus predecesores, es decir, las

hojas de alfalfa son capaces de utilizar el anhídrido sulfuroso atmosférico que lo transforman rápidamente en compuestos orgánicos azufrados. Aunque las plantas pueden tomar el SO_2 a través de los estomas, directamente, la cantidad absorbida así no es suficiente para cubrir las necesidades fisiológicas de las plantas (Jordan, et al., 1958).

El peso de las raíces en áreas crecidas en atmósfera controlada de anhídrido sulfuroso disminuye cuando aumenta la concentración de este gas (Faller, 1968). No se ha descrito si el efecto del anhídrido sulfuroso es el mismo, cuando las raíces están en presencia de una adecuada fuente de azufre.

A concentraciones altas de anhídrido sulfuroso puede ser perjudicial para el vegetal. Thomas, et al. (1935), describen ciertas enfermedades de defoliación cuando en la atmósfera se acumula este gas. Ross (1971), demuestra que las concentraciones alcanzadas en ciudades industriales podían afectar la sensibilidad de la planta. Bohme (1970), estudia diversos niveles de óxidos de azufre y de fluoruros en áreas polucionadas y consideró que la toxicidad en las hojas eran causadas por los compuestos fluorados y no había lesiones tóxicas ocasionadas por los compuestos del azufre. Cuando las concentraciones de anhídrido sulfuroso en la atmósfera no son perjudiciales para la vegetación, el uso de combustibles del tipo fuel-oil conteniendo azufre, tiene un efecto beneficioso en la producción de cosechas (Kampath, 1972).

Zahn (1961), dió una pequeña clasificación de los límites de tolerancia en $\text{mg de SO}_2/\text{m}^3$ de aire en planta, siendo las más sensibles las plantas forrajeras y las menos crucíferas. Kühn y Faller (1972), afirman que la proporción de anhídrido sulfuroso utilizado en el aire, es más elevada que la de anhídrido carbónico. Además la capacidad de las plantas para el anhídrido sulfuroso representa un factor nada despreciable para el saneamiento de la atmósfera y al cubrir el anhídrido sulfuroso unas necesidades en las plantas, cuando se encuentra en suficiente concentración, aporta un beneficio económico indudable a la agricultura (Linser, 1967).

En áreas normales de contaminación, las formas que se presenta el azufre son tres: como sulfhídrico, procedente

de la descomposición biológica y anaeróbica de los residuos orgánicos (Whitehead, 1964), como anhídrido sulfuroso, que es la más corriente, procedente de la combustión, de los materiales que contienen azufre en mayor o menor proporción y una última forma como partículas de azufre al estado de sulfato que puede provenir del agua del mar o de las tierras pantanosas (Junge, 1972). El sulfhídrico se oxida rápidamente por el ozono, proceso importante en la troposfera, disminuyendo el contenido en este gas. El sulfuroso se oxida a sulfato por diversos procesos (Jaeger, et al., 1973), entre ellos, la fotooxidación química, siendo los productos de oxidación eliminados, algunas veces, por arrastre en las nubes (Beilke, 1970). En algunas ocasiones, el proceso de oxidación mencionado se intensifica por la presencia de amoníaco. Realmente se produce un ciclo del azufre en la atmósfera, el cual está sólo parcialmente aclarado. Una vez el azufre atmosférico al estado de sulfato, por sedimentación cae a la superficie de la tierra. Hay evidencia de la importancia de este fenómeno (Faller y Herwig, 1969; Robinson y Robbins, 1970).

La capacidad de los suelos de oxidar el anhídrido sulfuroso depende de la naturaleza del suelo (Faller, et al., 1970). Se conoce que es mayor en suelos derivados de rocas básicas que en los derivados de rocas ácidas (Barrow, et al., 1969).

La mayoría de los combustibles naturales contienen azufre, tanto los líquidos como los sólidos. Al quemarse el sulfuroso es expulsado a la atmósfera y puede incorporarse al suelo por la lluvia o ser absorbido por las plantas.

Los combustibles de bajo contenido en azufre se usan cada vez más en sustitución de los de alto contenido en dicho elemento. En zonas rurales la consecuencia ha sido una menor aportación del azufre a los cultivos. Con la regulación de la contaminación atmosférica en países industriales, la cantidad total de sulfuroso expulsado al aire decrecerá.

D. AZUFRE EN EL SUELO.

Contenido de azufre.- Tisdale y Nelson (1966), valoran la proporción de azufre en la superficie de los suelos

en un 0,06 %, sin embargo, ésta puede variar considerablemente. En cultivos se han encontrado valores que oscilan desde trazas (Ensminger, 1958), hasta más de 500 ppm (Starkey, 1966). En 1972, Trocmé delimitó el contenido de azufre en suelos entre las 100 y 300 ppm. Los niveles más bajos corresponden a tipos de suelos arenosos, pobres en materia orgánica y los niveles superiores corresponden a suelos ricos en materia orgánica, suelos de turba o ciertos calcáreos ricos en sulfato de calcio. Los suelos con más de 1000 ppm son los encontrados en zonas emisoras de vapores de azufre y emanaciones de aguas sulfurosas o de tipo volcánico (Lotti y Galoppini, 1964).

El azufre puede encontrarse en el suelo en forma orgánica e inorgánica. El estado químico del azufre dependen entre otras causas del estado de aireación de los suelos, estando implicado el encharcamiento, y la anaerobiosis entre otras (Hart, 1959; Freney, 1957). En suelos poco drenados y en anaerobiosis suele ocurrir una intensa reducción de sulfatos (Starkey, 1966; Roy y Trudinger, 1970), con la subsiguiente precipitación de sulfuros metálicos. La formación de sulfuros puede producir alcalinidad en los suelos y una fijación neta del anhídrido carbónico atmosférico, que modifica los suelos encharcados en calcáreos.

La fuente más común de azufre inorgánico son los sulfuros metálicos de rocas, que durante un proceso de oxidación se convierten en sulfatos solubles o insolubles que serán adsorbidos por microorganismos de plantas superiores o bien reducidos a azufre elemental (Tisdale y Nelson, 1966).

Los sulfatos son otra fuente de azufre, especialmente el yeso que se acumula a menudo en regiones áridas. Cuando esta acumulación ocurre, rara vez el azufre constituye el factor limitante en la alimentación de las plantas. Otras formas de sulfatos aparecen en los suelos calcáreos como sales de bario y estroncio, sulfatos insolubles o como impurezas co-cristalizadas en el carbonato cálcico (Williams, 1960; Williams, et al., 1962). En estos suelos los sulfatos inorgánicos constituyen las dos terceras partes del azufre total.

La mayoría de los suelos húmedos dedicados a la agricultura, parecen contener poco sulfato inorgánico en la superficie (Ensminger, 1954; Hesse, 1957; Jordan y Bardsley,

1958; White, 1959; Freney, 1961). No todo el sulfato inorgánico es extraíble con agua, soluciones con aniones cambiabiles pueden extraer una fracción que se considerará absorbida. Los óxidos de aluminio e hierro, son activos en estos procesos a pH bajos, aunque otros coloides del suelo pueden estar implicados (Kamprath, et al., 1956; Ensminger, 1958; Berg, 1959; Schell, et al., 1959). El calcio puede jugar un papel en la absorción del sulfato, aparte de la fijación por precipitación del sulfato de calcio (Hesse, 1958; Bardsley y Lancaster, 1960).

Una tercera fuente de azufre son los minerales de la arcilla, que presentan una estructura lo suficientemente abierta para que los iones sulfuro y sulfato sean retenidos en su interior (Pédro y Robert, 1972). Respecto a la fuente de azufre absorbida por la fracción arcillosa, Harvard, et al. (1962), proponen al sulfato absorbido en la superficie de la arcilla con hierro y aluminio hidratado y el orden de capacidad de absorción es: caolinita > ilita > montmorillonita. Aylmore (1967), propone un movimiento del sulfato por un proceso de absorción ↔ desabsorción.

El azufre orgánico en los suelos constituye una importante reserva para la planta (Jordan y Ensminger, 1958). Hay evidencia de que una fracción considerable de azufre es sulfato covalente unido a ciertos compuestos de la materia orgánica (Freney, 1961). Esto indicaría que los compuestos podrían estar como polisacáridos azufrados o como sulfatos de esteres fenólicos. Stephenson (1956a), encontró gran cantidad de aminoácidos azufrados en suelos hidrolizados, este mismo autor (1956b) y otros (Sowden, 1956; 1958) determinan que la metionina y la cisteina constituyen el 10 % del azufre en el suelo.

En suelos no tratados, vírgenes, se observan pequeños cambios (Starkey, 1966). Existe un equilibrio dinámico, sin duda, mantenido entre la cantidad de azufre en el suelo, la microflora presente y la planta (Simon-Silvestre, 1960). La adición de tiosulfatos o azufre al suelo puede sin embargo producir cambios en la microflora existente, en los compuestos de azufre y en los factores físicos. Los sulfuros pueden tener un doble origen, pueden aparecer en el curso de la degradación de la materia orgánica, siendo oxidados rápidamente a azufre o sulfatos y por lo tanto no se acumula o bien aparecen por reducción directa de los sulfatos y compuestos minerales parcialmente oxidados en ausencia de oxígeno (Jacq y Dommergues, 1970).

Debido a ciertas condiciones atmosféricas los sulfatos pueden disminuir en el suelo, evolucionando a formas orgánicas no utilizables por los vegetales constituyendo así la reserva azufrados del suelo (Simon-Silvestre, 1972).

Los factores que afectan la absorción del azufre son diversos, entre ellos se describen la acidez. Matson (1927), apunta la teoría de que la capacidad de adsorción de los sulfatos por los coloides del suelo aumenta con ésta. En 1956, Kamprath, et al. estudian el factor pH en relación con la adsorción y demuestran que esta capacidad disminuye cuando el pH aumenta (Williams, 1962). Otro factor que colabora con esta absorción son los iones hierro y aluminio (Lichtenwalner, 1923). Con respecto a los distintos niveles del perfil del suelo, Ensminger (1954), concluye que los horizontes B y C es donde mejor se absorben los sulfatos, lo que indica que el sulfato se puede mantener en la superficie del suelo cuando el pH es 6,0 o algo superior.

E. AZUFRE COMO FERTILIZANTE.

Hasta hace relativamente poco tiempo los fertilizantes comerciales eran a base de superfosfatos (contenido: 12 % de azufre, 18 % de fósforo como P_2O_5), sulfato amónico (contenido: 24 % de azufre, 20 % de nitrógeno) o cloruro de potasio. Se aplicaban separados o mezclados para obtener fertilizantes completos de NPK. Actualmente se están reemplazando por materiales de mayor contenido en nitrógeno y fósforo a costa de componentes tradicionales.

Los fertilizantes de elevada graduación se aplican frecuentemente en suelos que anteriormente recibieron poco o nada de fertilizante. Por lo tanto, sin un suministro adicional, las existencias naturales de azufre, en ocasiones, se agotan rápidamente, con efectos nocivos para los cultivos (Odelein, 1966).

Los fertilizantes que suministran azufre son aplicados de acuerdo con el nitrógeno y fósforo requerido y no con el azufre necesitado por los cultivos, por lo que las deficiencias de azufre pueden presentarse incluso cuando el balance general nutritivo es favorable (Coic, 1961).

Han de tenerse en cuenta varios factores a la hora de la elección de la mejor forma de azufre que ha de ser uti-

lizada: el costo, métodos de aplicación, frecuencia, tamaño de las partículas, condiciones climáticas, posibles efectos secundarios del material, tipo, naturaleza del suelo a fertilizar, etc. (Walter, 1957; Dawson, 1959; Williams, 1973).

Como factor importante a considerar está el período crítico durante el cual las necesidades del cultivo son grandes y las posibilidades de alimentación son bajas. La razón se atribuye a que en este período el azufre orgánico del suelo no ha sido mineralizado en suficiente cantidad. Por ello, existen unas deficiencias temporales que no pueden ser detectadas por análisis de plantas o suelos, ya que el equilibrio de toda la planta puede ser favorable e incluso excederse en un período anterior o posterior a ese período crítico, así lo denomina Coic (1960; 1961; 1962), que lo estudió en cereales observando que correspondía a la etapa floración-espigación.

Se ha trabajado bastante con el azufre elemental y el yeso como fuentes de azufre para las plantas (Fox, et al., 1954; Jordan, et al., 1959; Weir, et al., 1963). En la mayoría de los casos el yeso ha dado una respuesta inicial favorable más rápida que en el caso del azufre, ya que éste se encuentra en forma no utilizable por la planta. El yeso se puede mezclar con las aguas de riego con bajo contenido en sales, mejorándolas (Gerei, et al., 1972).

Ante esto, existen evidencias de la capacidad de reacción que presente el sulfato, reacciona con el sodio que sustituye al calcio en suelos alcalinos y como sulfato sódico soluble es fácilmente lixiviado en el suelo, de su gran movilidad, o por un proceso de reducción convertirse en inútil para la planta, por lo que el azufre así utilizado ha de suministrarse en continuas o reiteradas aplicaciones (Martín, 1965).

El azufre elemental frecuentemente, es tan efectivo como el sulfato (Seim, et al., 1969). Su lenta oxidación es el factor que reduce su efectividad en los primeros momentos de aplicación, aunque suministra una respuesta mejor en épocas posteriores. Una aplicación previa del azufre tiende a estimular el crecimiento y actividad microbiana sulfurooxidante, por lo tanto, la formación de formas absorbibles por las plantas puede ser rápida (Pumphrey, 1963).

Para que el azufre tenga un efecto similar al yeso - en la respuesta de un cultivo, ha de considerarse el tamaño de la partícula (Koehler, 1965; Li y Caldwell, 1966; - Attoe y Olson, 1967). Cuando el tamaño de ésta aumenta la superficie de azufre por unidad de peso disminuye (Simon, et al., 1925; Fenster, 1965; Tisdale y Nelson, 1966). La intensidad de la oxidación es proporcional a la superficie (Fox, et al., 1964) y por lo tanto aumenta cuando disminuye el tamaño de la partícula (Bertramson, et al., 1950; - Li y Caldwell, 1966).

Aunque el azufre finamente dividido puede servir como excelente fuente nutritiva para la planta, con la ventaja que contiene un 100 % de elemento nutritivo, nos encontramos con el inconveniente de su uso: la dificultad de mezclarlo con otros materiales, incomodidad del polvo de azufre, etc. (Thorop, 1972).

La mala nutrición de las plantas en suelos alcalinos por la dificultad en la absorción de los nutrientes del - suelo, se previene con la adición de azufre en polvo y oligoelementos (Armand, et al., 1971; Rehm y Sorensen, 1974). El azufre añadido estará en función del pH y del contenido en carbonato cálcico en el suelo. ^

Como anteriormente se indicó, la acidificación que - producen los fertilizantes azufrados, en suelos calcáreos o con pH altos, aumenta la capacidad de utilizar el fósforo (Kashirad, et al., 1972) y una gran mayoría de microelementos entre los que se encuentran el cobre, cobalto, hierro, zinc, por solubilización (Beaton, 1971). Las mezclas de azufre con fosfatos de rocas han sido estudiados (Swaby, et al., 1958; Kittams, 1963), teniendo esta asociación -- efectos estimulantes en el crecimiento de la planta. Cuando se asocia el azufre con glauconita, se aumenta la liberación de potasio (Rudolfs, 1922). El azufre asociado aumenta la utilización del Mn en ciertos compuestos (Vavra y Frederick, 1952; Ludwick, 1964).

Banath (1969), fué el primero en considerar la pirita como posible fertilizante aún con un ritmo de oxidación -- lento. Los depósitos de sulfuro de hierro existen y se utilizan frecuentemente, entre otros usos, en fertilización - azufrada. Considerando que en condiciones de encharcamiento, en donde, la reducción de sulfatos a sulfuros, plantea un problema, o donde la lixiviación intensa elimina rápida

mente a los sulfatos, una lenta liberación del fertilizante es un factor importante y en este caso los sulfuros metálicos son ventajosos (Barrow, 1971).

Fertilizantes que contienen azufre.

Tiosulfatos.

Están entre las formas parcialmente reducidas de azufre. Son excelentes fuentes de azufre para las plantas. -- En su proceso de oxidación están relacionados numerosos microorganismos (Trudinger, 1961; 1964; 1965). Se aplica al suelo en forma líquida. Se transforma inicialmente en sulfatos y tetracionatos o en sulfatos y azufre elemental. - Son inestables en medio ácido produciendo sulfuroso.

Sulfuros y Polisulfuros.

La oxidación de piritas, finamente divididas, en suelos ácidos puede ser bastante rápida (Rasmussen, 1961). Es ta oxidación ocurre así: hay una disolución de la pirita - por oxidación no biológica, el hierro se transforma en forma férrica y el sulfuro en azufre elemental y después una oxidación biológica del azufre elemental a sulfato. Una al ta acidez de los suelos acelera la disolución aunque dismi nuye la oxidación del azufre a sulfato.

Azufre suministrado con fertilizantes nitrogenados.

El sulfato amónico es el más antiguo de los ferti zantes minerales, constituyó la principal fuente de azufre que se suministraba como fertilizante nitrogenado. La uti lización del sulfato amónico desde el punto de vista absoluto ha aumentado considerablemente, pero desde el punto de vista relativo con respecto a la cantidad de nitrógeno - como nitrato amónico o urea- utilizado ha disminuído --- (Hignett, 1967; Harre, 1969).

Este cambio puede ser debido a la acidificación pro ducida por el sulfato amónico en los suelos y para compen sarla debía de añadirse cantidades notables de carbonato cálcico (Sluijsmans, 1970). Disminuir el pH es recomendado a suelos calcáreos, por los beneficios que produce, ya men cionados, pero el nitrógeno eliminado por la desnitri ficación, lixiviación o volatilizado, puede influir en la elec

ción de un fertilizante con alto contenido en este elemento. Se comprende así, los resultados anómalos obtenidos en cosechas tratadas con diferentes abonos nitrogenados en diferentes plantas, tipos de suelos y condiciones climáticas (Devine, et al., 1963; Enyi, 1965; Saalbach, 1965-66; Datta, et al., 1969).

Entre los fertilizantes nitrogenados que existen en el mercado, conteniendo azufre, tanto en forma elemental, reducida, como oxidada, están:

Como productos sólidos: sulfato de amonio, sulfo-nitrato de amonio, sulfato amónico magnésico, urea-azufre, urea-yeso, y SCU o "sulphur-coated-urea" en el que el azufre elemental reduce la solubilidad de la urea, experimentada ampliamente en la actualidad por la lenta liberación del fertilizante (Lunt, 1967; Mays y Terman, 1969; Allen, et al., 1971; Rindt, et al., 1971; Locascio, et al., 1971).

Como productos solubles: soluciones de tiosulfato amónico, bisulfito amónico, y la disolución de azufre en amoniaco anhidro. El azufre es soluble en amoniaco en proporción adecuada de azufre y nitrógeno para un cultivo en producción. La naturaleza química de esta disolución de azufre en amoniaco anhidro no se conoce, pero el azufre contenido en este sistema es rápidamente oxidado en el suelo. Cuando se introduce en el suelo el sulfato queda retenido en zonas de alta concentración en amoniaco. Pero no influye en la oxidación por microorganismos. Las dosis de azufre no deben pasar del 10 por ciento para evitar precipitaciones. La solubilidad del azufre en el amoniaco disminuye con la temperatura (Tisdale, 1968). El azufre de esta forma tiene una acción más lenta pero más sostenida que los sulfatos (Parr y Giordano, 1968).

Azufre suministrado como fertilizante potásico.

En forma de sulfato potásico, ha sido durante muchos años suministrado el potasio a los cultivos, actualmente sólo un 10 % de las exigencias de potasio se suministra así. Anteriormente se utilizaba, no por contener azufre, sino por no utilizar el cloruro, que en ciertas condiciones no era beneficioso (Kemmler, 1972).

En regiones húmedas el cloruro potásico es el fertilizante utilizado habitualmente, pues los cultivos no son

sensibles al cloro. En zonas áridas o semi-áridas, donde los suelos tienden a contener gran cantidad de sales, se debe aplicar fertilizantes con bajo contenido en éstas. El índice de salinidad del sulfato potásico, es mucho menor que el del cloruro potásico e incluso el del nitrato potásico (Hardestry, 1967).

Otra razón por la que interesa utilizar este compuesto: la absorción a nivel de planta depende del catión acompañante. Se encontró que la asimilación disminuye en el orden: sulfato potásico > sulfato amónico > sulfato sódico > sulfato magnésico > sulfato cúprico (Rollier y Ferrif, 1969).

Levitsky (1968) delimita el azufre suministrado a través de los fertilizantes potásicos, como el sulfato potásico y el sulfato-potásico-magnésico, entre el 4-5 % del azufre total utilizado en la fabricación de fertilizantes.

Azufre suministrado en fertilizantes fosfatados.

El azufre presente en este tipo de fertilizantes proviene del utilizado en el proceso de fabricación: para solubilizar los fosfatos naturales, para recuperar el gas de cok, y para preparar un fertilizante desprovisto de cloro.

La cantidad del contenido en azufre varía con la riqueza del fosfato utilizado. Con el superfosfato normal, nos encontramos con el azufre que como ácido sulfúrico se utiliza en la elaboración del fertilizante y se ha convertido en sulfato cálcico. Cuando el sulfato es enriquecido, el sulfato cálcico se elimina bajo forma de yeso. En el superfosfato concentrado no se contiene prácticamente nada de azufre (Gervy, 1972).

Azufre suministrado por el estiercol.

La dinámica del ciclo del azufre en la biosfera es -- muy similar a la del nitrógeno. Los deshechos de origen vegetal y animal vuelven al suelo constituyendo una etapa de la misma importancia en los ciclos de estos dos elementos.

El contenido en azufre y nitrógeno de distintas heces de animales fueron determinadas por Oke (1967). La relación entre el nitrógeno y el azufre puede variar según la ali-

mentación mantenida por estos animales (Barrow, 1961).

El azufre se presenta tanto en la fracción líquida -- (orina) como en la sólida (excrementos). En la fracción líquida se encuentra al estado de sulfato en su mayor parte, aunque también puede existir como formas parcialmente oxidadas en la taurina, tiocianatos, etc. (Harper, 1969). El azufre de esta fracción es fácilmente asimilable por la -- planta. El azufre de la fracción sólida se encuentra como azufre orgánico, formando parte de aminoácidos. La asimilación en este caso depende de la composición de la materia orgánica. Si es muy alta la relación C/S, el azufre queda inmovilizado en el suelo, dando lugar a una carencia de -- azufre asimilable similar a lo que ocurre en el caso del -- nitrógeno.

En el estiércol, según las condiciones de aireación -- del medio, los compuestos azufrados evolucionan diversamente. Hay formaciones de sulfatos en medios aerobios, de sulfhídrico en ausencia de aire, pero la mayor parte queda en forma orgánica, como señalábamos antes. La influencia del contenido del azufre en la paja sobre la mineralización de este elemento y sobre la nutrición de la planta ha sido estudiado por Stewart, Porter y Viets (1966). Estos autores, comparando pajas de contenido en azufre muy diferente, han podido observar el efecto depresivo de las pajas pobres sobre el contenido de sulfatos del suelo y sus consecuencias desfavorables sobre el crecimiento de las plantas en época de baja mineralización. Independientemente se ha encontrado otros efectos del contenido en azufre de los abonos orgánicos, tales como el realizado sobre la mineralización -- del carbono y las interacciones azufre/nitrógeno.

Azufre elemental en polvo.

En la exhaustiva revisión bibliográfica efectuada, sobre el tema, sólo encontramos a Turrell (1950), que explica la utilización por la planta del polvo de azufre -- marcado. Este autor basa sus experiencias en hojas de limón, en donde en un adecuado procedimiento pulveriza determinadas hojas. El azufre radioactivo y micronizado a través de las hojas, lo detecta en la fracción protéica. En años sucesivos encontramos otros trabajos (Turrell y Scott, 1951; Turrell y Weber, 1955). Es en 1968, cuando Recalde y Martín logran, mediante pulverizaciones con azufre en polvo,

combatir la deficiencia temporal (Coic, 1961) en olivos, - obteniendo un incremento de cosecha. El azufre, que está - finamente dividido y depositado sobre las hojas, por acción del oxígeno del aire se transforma a nivel de los estomas en SO_2 que será absorbido y metabolizado.

EL CICLO DEL AZUFRE

Las bacterias del suelo y del agua llevan el átomo de azufre a través de sus varios estados de oxidación de acuerdo con el esquema presentado en la figura nº 1.

No hay ningún elemento que se presente de tantas formas como el azufre (Lewis, et al., 1923). Su estado de valencia o grado de oxidación varía de S^{2-} a S^{+6} estando representados ambos extremos por los sulfuros y sulfatos respectivamente.

El azufre es absorbido por las plantas casi exclusivamente al estado de sulfato, de ahí que se haya colocado resaltando en el centro del ciclo. Algunos autores han encontrado otras formas de azufre que pueden penetrar por las raíces de las plantas (Bardsley, 1960; Blair, 1971). A nivel de hoja y con azufre marcado, Thomas y Hendricks (1943) demostraron que el azufre podría ser absorbido como dióxido de azufre y Fried (1948) llegó a la misma conclusión.

En el esquema expuesto, se pueden distinguir dos partes bien definidas, una, la inferior, referente a lo que ocurre en el suelo, también sucede lo mismo en el agua y la superior que corresponde a la parte aérea del ciclo, que también puede darse en el agua, siendo en este medio donde el conjunto adquiere su más perfecta expresión.

El sulfato es, como decíamos, el compuesto de máxima oxidación y el más importante desde el punto de vista agrícola. Puede provenir por oxidación de los sulfuros, del azufre e incluso del sulfuroso de la atmósfera que es arrastrado por el agua de lluvia o simplemente del suelo donde pueden haber sulfatos más o menos insolubles procedentes de la erosión de los minerales del azufre.

Los primeros investigadores (Joffe, et al., 1922; Adams, 1924; Brown, 1923; Michael, 1943), estaban más inte

resados en la producción de sulfato de las formas inorgánicas del azufre que en la mineralización del contenido - en la materia orgánica del suelo, cuando en realidad, como antes comentábamos, el 90 % del elemento se encuentra en forma orgánica. Es en años después, cuando se estudia más intensamente la formación de sulfatos a partir del -- azufre orgánico (Hesse, 1957; White, 1959; Cairns, et al., 1960; Barrow, 1961).

PROCESO DE MINERALIZACION.

La mineralización en el ciclo del azufre y la reorganización o inmovilización de este elemento presenta un interés particular bajo el punto de vista del rendimiento - de las plantas fertilizadas con azufre.

Las transformaciones biológicas estacionarias por las que pasa el azufre en el suelo, son paralelas a las del nitrógeno (Williams, 1968). En los dos ciclos se presenta un compuesto de tipo atmosférico y su contenido en el suelo - se asocia a la materia orgánica, no pudiendo ser utilizado por las plantas si no sufren un proceso biológico. Los nitratos corresponden a los sulfatos, ambos idealmente utilizados por los vegetales, en consecuencia, la reducción a - sulfhídrico en la descomposición de las proteínas azufradas es análoga a la formación de amoníaco en la amonificación. La mineralización en primavera del azufre orgánico a sulfato, alcanzando un máximo en verano y la reorganización de los sulfatos en otoño con un contenido mínimo en invierno, ocurre de forma similar, pero la amplitud e importancia de la mineralización y reorganización del azufre y nitrógeno en relación con el total de estos elementos, es mayor - para el primero que para el segundo (Simon-Silvestre, 1960; 1967).

Puesto que la mayor parte del azufre se encuentra en forma orgánica, no asimilable por las plantas, mientras - no se fertiliza directa o indirectamente con él, vá a ser la fuente periódica de este elemento en el suelo, conviene conocer al máximo los factores que de una manera u otra influyen en la mineralización del azufre orgánico a sulfato y que son de suma importancia en el ciclo general de este elemento, ya que, como se aprecia claramente, todas las posibles vías se encuentran interaccionadas. De hecho, aun--

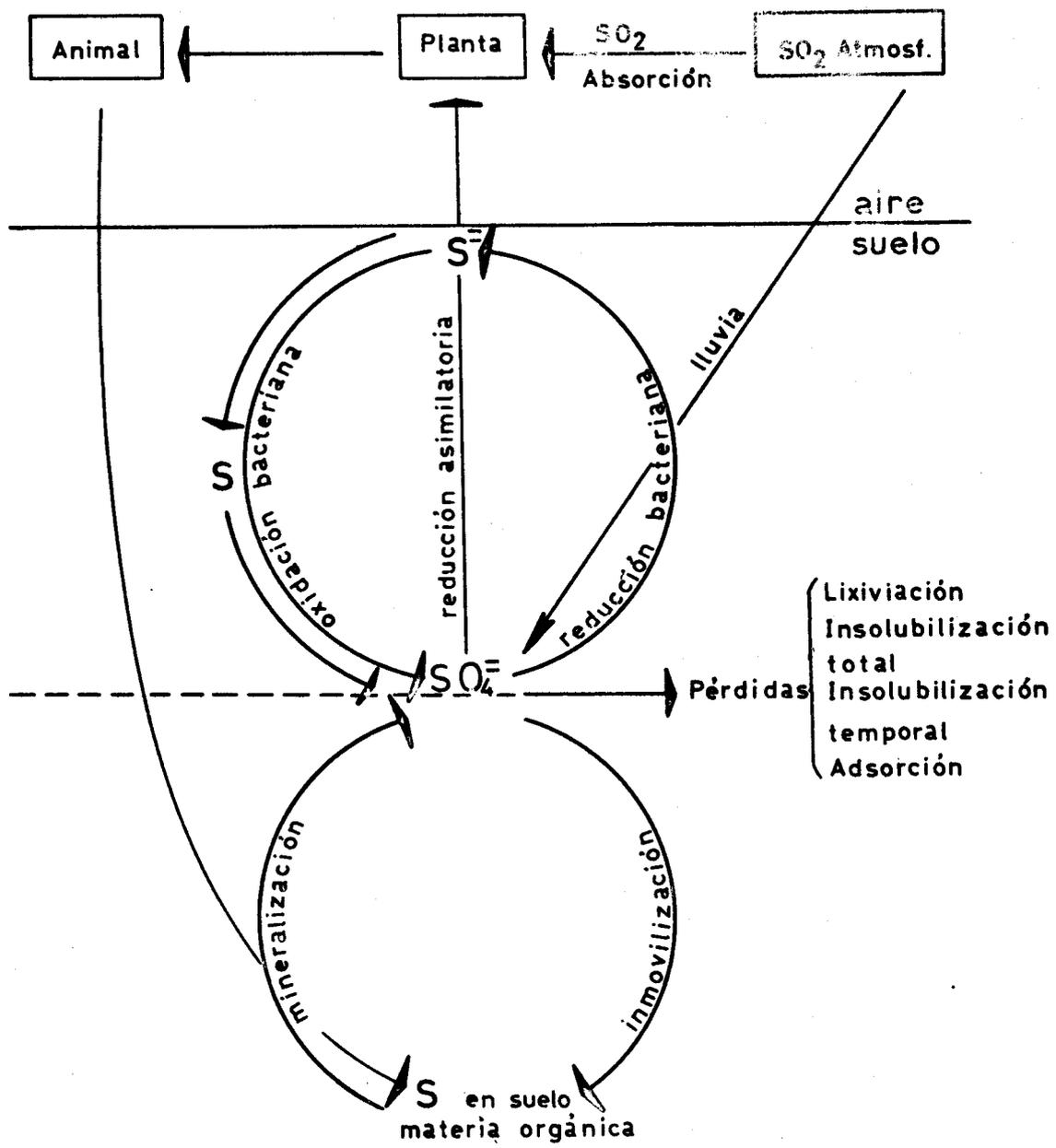


Fig. 1- Ciclo del Azufre



que la mineralización y la inmovilización se han indicado en un subciclo, se podía imaginar que, a veces, dicho subciclo por un giro de 180°, tomando como eje la línea de puntos, llega a coincidir la inmovilización con la reducción y la mineralización con la oxidación.

De hecho, el paso de azufre orgánico a sulfato puede realizarse vía sulfuro (Starkey, 1956; Frederick, et al., 1957; Freney, 1960), o bien sufriendo la oxidación ligada a la correspondiente molécula orgánica, vía ácido cisteínico (MacLaren, 1963; Freney y Stevenson, 1966).

La mineralización del azufre de la materia orgánica del suelo depende, como es lógico, del contenido en azufre de dicha materia orgánica, de la misma forma que la mineralización del nitrógeno depende del contenido en la misma (Barrow, 1960). Se suponía que la mineralización de ambos elementos podría ser similar, de ahí que la cantidad de azufre y nitrógeno mineralizado sería proporcional al nivel de materia orgánica en el suelo. Pero estudios posteriores demostraron, que la relación nitrógeno/azufre mineralizado era superior a la que se podría esperar de acuerdo con su presencia en la materia orgánica, pudiendo deberse tal hecho a la distinta facilidad con que uno y otro son mineralizados (Hess, 1957; Barrow, 1961; Haque y Walsmsley, 1972). Aunque la mineralización del nitrógeno no depende del contenido de azufre y fósforo en el suelo, se mineralizó más nitrógeno, en presencia de azufre que de fósforo (Oke, 1970).

Factores que afectan a la mineralización.

i.- Contenido en materia orgánica. Influye no sólo como fuente de azufre, sino por la presencia de otros nutrientes (Barrow, 1961). Según Tisdale y Nelson (1966), la mineralización disminuye cuando las relaciones C/S y N/S en la materia orgánica aumentan.

ii.- Presencia de vegetación. Freney y Spencer (1960), observaron que, en general, hay mayor mineralización de azufre en presencia de plantas en crecimiento que en su ausencia, posiblemente debido a un efecto de rizosfera.

iii.- pH. El efecto del factor pH en la mineralización de la materia orgánica no es claro. Williams (1967) encon-

tró que al elevar el pH con carbonato cálcico aumentaba la mineralización del azufre. Hesse (1957) había observado el efecto contrario.

iv.- Humedad del suelo. Con la desecación del suelo aparecen sulfatos en cantidad (Barrow, 1961), tratándose de un proceso de naturaleza no biológica que en suelos áridos puede tener importancia. Williams (1967) observó que la humedad óptima para la mineralización del nitrógeno y del azufre correspondía a un pF 2,0.

v.- Temperatura del suelo. Williams (1967) también estudió que a medida que se aumenta la temperatura del suelo se incrementa la cantidad de sulfatos presente en el mismo. A temperaturas elevadas y anaerobiosis se producen otros compuestos tales como mercaptanos (Tatai y Asami, 1962).

Microorganismos responsables. Generalmente son heterótrofos aerobios y anaerobios los que intervienen en la mineralización del azufre orgánico. Entre ellos bacterias pertenecientes a los géneros Proteus, Serratia, Pseudomonas, Clostridium y hongos tales como Aspergillus, etc. (Simon-Silvestre, 1960).

INMOVILIZACION.

El proceso inverso a la mineralización del azufre es su inmovilización, como en el caso del nitrógeno. Los microorganismos del suelo juegan un papel esencial, sin embargo, frente a la inmovilización microbiana, la vegetación transforma en azufre orgánico el azufre mineral, que es absorbido. El azufre vuelve al suelo con los residuos vegetales o animales para ser mineralizado.

Los factores ecológicos que intervienen en la inmovilización del azufre son los mismos señalados para la mineralización, como es lógico, pero actuando en sentido contrario. Esto es, pH bajo, humedad elevada, relación C/S elevada y temperatura baja.

En la incorporación del azufre en el humus, máxima inmovilización del azufre, parece ser que los compuestos que más intervienen son los que contienen el grupo sulfhidrilo en su molécula (Freney, et al., 1966). Las reacciones

de este radical son frecuentemente similares al grupo amino por lo que se estabilizan en el humus de forma similar (Witehead, 1964).

OXIDACION DE LOS COMPUESTOS MINERALES DEL AZUFRE O - SULFOOXIDACION.

i.- Oxidación inorgánica del azufre.

La auto-oxidación u oxidación inorgánica del azufre es posible. Los sulfuros, el azufre elemental y los tiosulfatos, pueden oxidarse lentamente e incluso en condiciones favorables de una forma rápida, aunque, la oxidación de la pirita por ejemplo, es bastante lenta, ya que se requiere gran acidez para romper la estructura. El anhídrido sulfuroso puede oxidarse a anhídrido sulfhídrico en el aire a baja temperatura. Los tiosulfatos requieren iodo para oxidarse a tetratiónato. Los politiónatos son bastante inestables y en medio básico dan azufre y sulfato. Generalmente las condiciones para cambios químicos son insuficientes e insignificantes (Pauling, 1959; Alexander, 1961).

ii.- Oxidación biológica del azufre.

Cuando las formas reducidas del azufre se suministran al suelo, bien como fertilizante o en cualquier forma susceptible de ser oxidada, el efecto sobre la microflora sulfoxidante es sorprendente, no sólo cuantitativa sino cualitativamente. Pueden agruparse en dos tipos principales: bacterias autótrofas y heterótrofas y entre las primeras - las quimiolitótrofas y las fotolitótrofas, resultando, por lo tanto, tres grandes grupos distintos, de entre los cuales las bacterias quimiolitótrofas y las heterótrofas (quimiorganótrofas) son las de mayor significación en el suelo. Las bacterias fotosintéticas y algunas otras autótrofas como Beggiatoas, son bacterias eminentemente acuáticas, se desarrollan en presencia de sulfhídrico y actúan por tanto en el suelo en condiciones excepcionales.

Las bacterias autótrofas no requieren ni carbono, ni nitrógeno orgánico, para su crecimiento, pues son capaces de sintetizar carbonatos y proteínas a partir de anhídrido carbónico y sales minerales, bien utilizando la luz co

mo fuente de energía o bien por oxidaciones químicas (Kelly, 1967; Peck, 1968).

Son bien conocidas en el suelo las bacterias quimio-litótrofas del azufre. Pertenecen al género Thiobacillus y pueden oxidar el azufre, los tiosulfatos y los tetratio-natos a sulfatos. Las reacciones llevadas a cabo por mi-croorganismos, aparte de ser diversas y numerosas, son -- bioquímicamente poco conocidas aunque han sido exhaustivos los trabajos realizados sobre ello por diversos autores, entre los que podemos citar los más recientes: Peck (1962); Starkey (1966); Burns (1967); Trudinger (1967); Swaby, et al. (1968); Trudinger, et al. (1969); Vitolins, et al. -- (1969); Roy y Trudinger (1970); Kelly (1972).

Las bacterias fotosintéticas se desarrollan en ausen-cia de oxígeno y presencia de luz y sulfhídrico (Pfennig, 1967). Se encuentran normalmente en lagos, aguas ricas en materia orgánica. Coloreadas por los pigmentos que contie-nen, utilizan los sulfuros como donadores de electrones - para reducir el carbónico. Es decir, fotolisan al sulfhí-drico de la misma forma que las plantas verdes fotolisan el agua. En este caso hay liberación de oxígeno y en aquél acumulación de azufre, substrato que, en condiciones favo-rables, puede ser oxidado por los sulfooxidantes.

Estas bacterias pueden realizar un papel importante - en suelos encharcados tales como arrozales, pero, probable-mente, en suelos aerobios su desarrollo no sea interesan--te (Vitolins y Swaby, 1967; 1969).

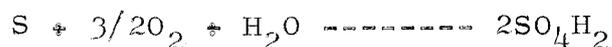
Los microorganismos heterótrofos requieren carbono -- organizado como fuente de energía. La oxidación del azufre o de sus compuestos no le es esencial. Como regla general, la oxidación por los microorganismos heterótrofos no es -- tan rápida como la realizada por los autótrofos. Gran nú--mero de tipos están representados pertenecientes a bacte--rias, actinomicetos y hongos. Sin embargo, hay autores que señalan que su gran adaptación al medio edáfico indican -- que realizan una función tan importante como los autótro--fos (Vitolins y Swaby, 1967; 1969). Estas bacterias heteró-trofas también oxidan el azufre elemental a politionatos y tiosulfatos y éstos a sulfatos (Peck, 1962; Burns, 1967; - Stafford y Callely, 1969).

La oxidación desde el punto de vista agronómico del -

azufre a sulfato, ha sido tratado recientemente por diversos autores. Entre ellos, Voilliot (1971).

Factores ecológicos que intervienen en la oxidación.

i.- Humedad y aireación. La ecuación que expresa la oxidación por microorganismos incluye agua además de oxígeno.



En suelos con un nivel bajo de humedad, la lenta oxidación del azufre se atribuye a la falta de agua (Kittams, 1963). En suelos con altos niveles de humedad el oxígeno es el factor limitante (Lees, 1955). La humedad y la aireación van estrechamente ligados a la actividad sulfooxidante como en tantas otras propiedades del suelo. En suelos anaerobios si no hay oxidación del azufre (Th. desnitrificans) se debe en parte a un insuficiente contenido en nitratos.

ii.- Temperatura. La sulfooxidación es más sensible a la temperatura. Aunque no se poseen datos se da entre 4° y 55° no obstante, la óptima se encuentra entre 27° y 37°. Poca sulfooxidación existe fuera de estos límites de temperaturas (Parker, et al., 1953; Tisdale y Nelson, 1966).

iii.- pH. La sulfooxidación es en general favorecida por la neutralidad. Así, el encalado de los suelos ácidos incrementa la actividad microbiana con la subida del pH.

iv.- Adición de carbonato cálcico. Normalmente la adición de carbonato cálcico al suelo aumenta la proporción de oxidación del azufre aplicado y la mineralización del azufre orgánico, ya que el pH del suelo se eleva al neutralizar la acidez producida por la sulfooxidación (Fox, et al., 1964; Nelson, 1964).

REDUCCION DE LOS COMPUESTOS MINERALES DEL AZUFRE.

El paso del sulfato a sulfhídrico puede hacerse con dos fines, asimilador o catabolizador. Esto es, podemos hablar de reducción asimiladora o desasimiladora. La primera es la que tiene lugar en la planta como consecuencia de la

absorción por sus raíces del azufre en su máximo grado de oxidación y la necesidad de llevarlo en su organización, a sus máximos niveles de reducción. Las plantas y los microorganismos, pero no los animales multicelulares, pueden construir sus compuestos orgánicos azufrados a partir de sulfatos inorgánicos siguiendo un camino similar, donde intervienen reacciones de fosforilación y de reducción -- hasta llegar a sulfhídrico que reaccionarán enzimáticamente con la serina o mejor acetil-serina para dar cisteína - (Roy y Trudinger, 1970).

Muchos microorganismos pueden usar el tiosulfato como forma asimilable de azufre vía sulfocisteína (Roy y Trudinger, 1970), este compuesto se convierte en cisteína en presencia de glutatión reducido. El azufre orgánico -- (Freney, 1967) es liberado en el suelo por la descomposición o lisis de la microflora así como por la muerte de animales y tejidos de plantas.

La reducción asimilatoria del azufre se superpone en el ciclo con la inmovilización anteriormente descrita.

En medio anaerobio y adecuado para la vida microbiana los sulfatos son reducidos al estado de sulfuro. Hay bacterias que en condiciones adecuadas reducen los sulfatos a sulfuros utilizando el primero como aceptor de electrones y liberando sulfhídrico en lugar de agua. Se puede decir que estas bacterias "respiran" sulfato en el sentido en que los organismos aerobios "respiran" oxígeno. -- Una típica reacción respiratoria de este tipo puede ser expresada de acuerdo con Postgate (1968).

Esta limitada degradación de sulfuro de las fuentes de carbono y la gran producción de sulfuro es característica de la reducción desasimilatoria de los sulfatos, conduciendo a una intensa contaminación del ambiente por sulfhídrico.

La sulfato-reducción es realizada por un número limitado de especies microbianas muy repartidas en la naturaleza que se designan con el nombre de microorganismos sulfatoreductores (Furusaka, 1968). Compuestos menos oxidados del azufre son reducidos a sulfurosos por otros numerosos microorganismos. Los primeros caen dentro del género, diferenciados por su formación o no de esporas: Desulfovibrio y Desulfomaculatum, aunque existen también otras

bacterias sulfatoreductoras (Trudinger y Jones, 1969). Entre los segundos se encuentran bacterias, actinomicetos y hongos (Starkey, 1966).

La sulfato-reducción puede dar lugar a sulfuro de cobre e hierro (Postgate, 1965) incluso dentro de las propias células (Hallberg, 1970). El sulfhídrico puede ser también producido por microorganismos pero no por reducción de compuestos azufrados de mayor grado de oxidación, sino por -- descomposición de los compuestos orgánicos azufrados, principalmente de los aminoácidos azufrados. En 1912, Sasaki y Otsuka descubrieron ya liberación de sulfhídrico de la cisteína por acción bacteriana. Las bacterias que liberan sulfhídrico de la cisteína no actúan sobre la metionina (Tarr, - 1933), por lo que parece ser un proceso bastante específico.

De los resultados obtenidos se observa que el de la -- descomposición de la cisteína los productos inorgánicos obtenidos son diferentes de acuerdo con los microorganismos y condiciones de actuación.

Se encuentra en la bibliografía que con la adición de la materia orgánica se disminuye la sulfato-reducción (Ambrozva, 1969, 1971), aunque este hecho es discutido por -- otros (Timar, 1965; Timar, et al., 1967). Posiblemente la utilización de diferentes suelos sea la causa de los resultados contradictorios.

Para que la sulforeducción ocurra en el suelo deben -- darse tres condiciones: presencia de sulfatos, anaerobio-- sis estricta y contenido de suficientes sustancias donadoras de electrones. Estas condiciones recuerdan las requeridas por las bacterias desnitrificantes, si bien aquéllas -- exigen una más estricta anaerobiosis. Estos microorganismos son más propios de suelos hidromorfos, aunque pueden -- tener importancia en suelos mal aireados cuando crecen conjuntamente con grandes consumidores del oxígeno natural.

ASPECTO MICROBIOLOGICO DE LA UTILIZACION DEL AZUFRE COMO FERTILIZANTE.

La adición de azufre al suelo puede causar una inten-

sa acidificación del medio y una importante disminución de la actividad microbiana (Krol, et al., 1972). Según estos autores, los microorganismos supervivientes eran sulfooxi-dantes, sulfatoreductores y algunos hongos. La adición si multánea de cal incrementa la actividad microbiana. La acidez en suelos incubados con una humedad adecuada y azufre elemental disminuida de pH 6,0 a 4,0 en seis semanas - (Bhuyan, 1971).

Haque, et al. (1972) observaron cuando era incubado suelo con azufre que la actividad oxidante era óptima a - 30° C. Poco azufre se oxida microbiológicamente, a más temp.

Estos últimos autores citados describen que esta actividad microbiana tenfa un máximo a los 60 días de incubación independientemente de la cantidad de azufre que se adicione al suelo. También observan que la adición de materia orgánica estimula la oxidación del azufre solamente en suelos que habían sido inoculados con Thiobacillus Thiooxidans y otros.

La actividad sulfato reductora es más acusada, a igualdad de condiciones ambientales y climáticas, en suelos con gran cantidad de sales, especialmente como sulfatos (Buyanovsku, 1973). La presencia de nitratos inhibe la formación de sulfhídrico por reducción bacteriana de los sulfatos (Ilyaletdinov, 1965).

La actividad de la microflora sulfooxidante, la más importante desde el punto de vista agronómico, es de suponer afecte a la manifestación o comportamiento de los microorganismos implicados en los ciclos biológicos de otros elementos. La sóla modificación del pH puede influenciar positiva o negativamente su desarrollo, mientras que contribuye a la movilización de elementos minerales útiles para la planta y para los microorganismos, en suelos con deficiencia en dichos nutrientes (Sen Gupta y Cornfield, 1964).

La adición de azufre a suelos alcalinos estimula la actividad de los Thiobacillus que produciendo ácido sulfúrico, neutraliza la alcalinidad presente, mejorando la estrutura del suelo por floculación de los coloides (Simón-Silvestre, 1960). Dicho cambio estructural favorece el desarrollo de microorganismos impidiendo la proliferación de anaerobios perjudiciales como pueden ser Thiobacillus

desnitrificans y los propios sulfatoredutores. Por otra parte, el ácido sulfúrico resultante de la sulfooxidación solubiliza los fosfatos tricálcicos y los transforma en di cálcicos y monocálcicos asimilables no sólo por las plantas (Lipman, et al., 1916), sino por los microorganismos que si bien requieren pequeñas cantidades de fósforo pueden entrar en competencia con las raíces de la planta dando lugar a una disminución del desarrollo mutuo.

La acidificación solubiliza asimismo microelementos como el hierro y manganeso entre otros, haciéndolos asimilables (Quastel, et al., 1948).

Bajo el término de ciclo del nitrógeno se designan el conjunto de transformaciones que sufre el nitrógeno en la biosfera.

Estas transformaciones, de origen microbiano las más importantes, juegan un papel primario en el plano agronómico, porque rigen de una parte las ganancias y las pérdidas de nitrógeno en el suelo y de otra su contenido en forma asimilable.

El nitrógeno del suelo, al menos en los horizontes se encuentra esencialmente en forma orgánica. La fracción mineral no representa nada más que una débil proporción del total. Para la utilización por los vegetales superiores ha de ser mineralizado a través de las etapas de amonificación y nitrificación, aunque, en contra de lo admitido por largo tiempo, el nitrógeno amoniaco puede ser bien absorbido por las plantas, aún en presencia de cantidades elevadas de nitratos.

La capacidad para degradar las sustancias proteicas y otras nitrogenadas al estado de nitrógeno amoniaco está muy repartida entre los diferentes grupos de microorganismos. Es, por tanto, un proceso poco específico y que se da cualquiera que sean las condiciones ecológicas del suelo, siempre que no se encuentren en los límites compatibles con la vida. Esto no quiere decir que el proceso se desarrolle siempre con la misma intensidad. Ciertos factores pueden estimularle (una elevación conveniente de la temperatura, o del pH) o deprimirlo (una fuerte acidez).

La nitrificación, causada por microorganismos más es

pecíficos, se encuentra afectada tanto en su fase nitrosa como nítrica por la forma y disponibilidad del sustrato amoniacal, el pH, la aireación, la humedad y la presencia de inhibidores y vegetación.

El ión amonio puede encontrarse en solución, en estado intercambiable, fijado a la arcilla o acompañado por ciertas fracciones de la materia orgánica del suelo. Se deduce de ciertos trabajos (Lees y Quastel, 1947; Macura y Kung, 1965), que la nitrificación ocurre no sólo sobre el amonio soluble sino también sobre el intercambiable, aunque hay autores (Goldberg y Gainey, 1955) que manifiestan dudas al respecto. En cuanto al fijado o acompañado presentan una posibilidad a la nitrificación muy pequeña (Allison, et al., 1953; Nommik, 1957; Swaby, 1962).

Es presumible como se decía anteriormente, que factores ambientales que se modifiquen por la presencia de azufre en el suelo puedan influir de algún modo en su actividad amonificante y nitrificante, aunque no se ha encontrado mucha bibliografía al respecto. Podemos citar a Hirabayashi, et al. (1967) y Blasco y Cornfield (1971) que describen que el tratamiento del suelo con azufre, reduce o inhibe la actividad nitrificante. Mann, et al., (1972) observan que a la vez que se reduce esta actividad es incrementada la desnitrificante.

El ciclo del nitrógeno no se reduce solamente a la amonificación y nitrificación. Evidentemente la activación de las sulfobacterias puede interaccionar con los fijadores del nitrógeno e, incluso, con la desnitrificación, pero estos procesos se salen de los límites impuestos a este trabajo, ya que las experiencias de invernadero se han utilizado con niveles óptimos de materia orgánica y una adecuada estructura del suelo, por lo que la fijación no tiene gran significación y la desnitrificación se encuentra reducida al mínimo.

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

1. MATERIAL.

1.1.- Suelos utilizados.

Se escogieron cinco suelos de la provincia de Granada correspondientes a los siguientes tipos:

- I tierra parda
- II pardo rojo calizo
- III rendsina syrosem
- IV pardo de vega
- V xerorendsina.

Las determinaciones analíticas llevadas a cabo (Esteban et al., 1973; 1974) sobre dichos suelos, dan las siguientes características y composición porcentual:

Tipo de suelo	I	II	III	IV	V
Arena fina	35,8	30	17,8	16	20
Limo	37	37,6	33,6	44,4	45,6
Arcilla	26,4	32,4	48,6	39,6	34,4
Grava	64,2	70	82,2	84,0	80,0
Capacidad catiónica de cambio*	17,5	14,99	15,53	10,38	15,52
pH (agua)	7,05	7,7	7,6	8,18	7,55
pH (CLK)	6,14	6,2	6,8	7,32	6,86
Fósforo**	8,13	12,68	11,7	65,98	13,18
Potasio***	29,68	17,47	29,15	66,08	19,75
Nitrógeno***	149,8	127,4	122,18	108,6	95,2

* m.e./100 g de suelo

** mg/100 g de suelo x 10

*** mg/100 g de suelo.

1.2.- Plantas utilizadas.

En las experiencias realizadas se han utilizado dos tipos de plantas:

a) Rábano rojo largo (Raphanus sativa).

b) Judía blanca tipo arbolillo (Phaseolus vulgaris).

Pertenecientes a las Crucíferas y Leguminosas respectivamente y seleccionadas por sus exigencias en azufre durante su crecimiento.

1.3.- Productos químicos, material de laboratorio y de invernadero.

Los utilizados en los distintos tipos de experiencias se indican y describen en los apartados correspondientes - del punto 2 (métodos).

2.- METODOS.

2.1.- Experiencias de laboratorio.

2.1.1.- Preparación e incubación de los suelos.-

Los suelos fueron molidos y tamizados por malla de 1 mm, - siendo llevados a incubación en condiciones óptimas de humedad, aireación y temperatura. Para ello, 100 g de cada tipo de suelo, adicionados de la cantidad necesaria de --- agua para conseguir los dos tercios de su humedad equivalente, se colocaron en matraces erlenmeyer de boca ancha - de 250 ml de capacidad. Después de tapados con plástico -- transpirable (galga 100) al oxígeno y carbónico y no al vapor de agua, fueron puestos a 28° C en estufa durante dos meses.

En experiencias destinadas a determinar el efecto de la adición de azufre, se incubaron los suelos con la cantidad de este elemento correspondiente a 40 Kg/Ha (Jordan, et al 1957). Realizado el cálculo, teniendo en cuenta el peso de la capa arable, se añadió azufre en polvo (Merck) en la -- proporción de 3,6 mg/100 g de suelo.

Para conocer el efecto de la materia orgánica, se adicionó, independientemente de la cantidad presente en cada suelo, el tres por ciento de estiércol de oveja. Con este nivel se ha pretendido minimizar la diferencia debida al - contenido en materia orgánica.

2.1.2.- Determinaciones practicadas.

2.1.2.1.- Determinaciones físicas y químicas.

2.1.2.1.1.- Determinación de la humedad equivalente.- Se ha empleado la técnica descrita por Duchaufour (1965) que en esencia consiste en colocar la muestra de suelo dentro de un filtro Gooch nº 2 dejándola humedecer durante 24 horas por ascensión capilar. Transcurrido este tiempo se aplica una depresión de 25,3 cm de mercurio ($1/3$ atmósfera) durante 15 minutos, mediante una trompa de agua de vacío. A continuación se pesa la muestra y se lleva a desecar en estufa a 105° C, hasta peso constante. Por diferencia de pesada se calcula la humedad.

Podemos definir la humedad equivalente como la cantidad máxima de agua retenida por capilaridad en el suelo, que corresponde a un $pF = 2,54$.

2.1.2.1.2.- Determinación de la materia orgánica.- Se ha realizado según la técnica de Lachica et al. (1961). El método está basado en la oxidación con dicromato potásico en sulfúrico concentrado.

Se pesa un gramo de suelo, finamente pulverizado, se añaden 10 ml de solución de dicromato potásico 1N y se agregan 20 ml de ácido sulfúrico concentrado, agitando suavemente durante 30 segundos. Se deja en reposo 30 minutos para enfriar, seguidamente se vierten 200 ml de agua destilada. Una vez enfriado, se añaden 10 ml de ácido fosfórico y 1 ml de difenilamina (0,5 g se disuelven en 20 ml de agua desionizada y 100 ml de ácido sulfúrico). Se valora el dicromato no reducido con la sal de Mohr.

Estas determinaciones se han realizado en muestras tomadas semanalmente durante el período de incubación en los cinco tipos de suelo.

2.1.2.1.3.- Determinación del azufre asimilable.- Ha sido determinado por las técnicas de Lachica (1964) y Barrow (1967). La solución extractora utilizada fué fosfato monocálcico 0,01M en la proporción suelo/solución extractora $1/5$ y el tiempo de extracción de 24 horas. La valoración final se realizó por turbidimetría de la sal bárica que se forma por adición de cloruro bárico a la solución extraída.

2.1.2.2.- Análisis microbiológicos.

2.1.2.2.1.- Preparación de las diluciones.- Se han realizado recuentos microbianos dirigidos a conocer el contenido en microflora específica de las diferentes muestras objeto de estudio.

Punto común de todas las técnicas desarrolladas, es la realización de una serie de diluciones (llamadas por costumbre para mayor claridad, diluciones-suspensiones) de las respectivas muestras que después van a constituir el material a sembrar en los correspondientes medios de cultivo selectivos.

El proceso general seguido en su preparación, basado en las técnicas recomendadas por Pochon (1954), Allen (1951) y Gallardo (1971), consiste en pesar 10 g de suelo que se suspenden en 90 ml de agua esteril contenida en un matraz redondo de 500 ml. Esta mezcla es llevada a agitación en B T L durante 10 minutos. Para hacerla lo más homogénea posible, se adicionan unas perlas de vidrio estériles. Así se consigue la dilución 10^{-1} , 10 ml de esta suspensión se lleva con pipeta esteril a 90 ml de agua también esteril y se somete a agitación durante 8 minutos en B T L. Se obtiene de esta forma la dilución 10^{-2} . Sucesivamente y de la misma manera se realizan las diluciones decimales hasta el límite impuesto de acuerdo con el contenido presumible de microorganismos, disminuyendo el tiempo de agitación proporcionalmente a la dilución.

Con este modo de proceder, sustitución de las clásicas probetas por matraces y empleo de agitador de brazos B T L, se pretende homogeneizar la muestra al máximo y suprimir en lo posible el llamado factor de retención de los microorganismos por las partículas del suelo.

Simultáneamente a la preparación de las diluciones y con objeto de referir los resultados a peso seco, se determina la tasa de humedad en cada muestra de suelo. Para ello, en un crisol tarado se pesa una cantidad arbitraria de la muestra utilizada en la realización de las diluciones-suspensiones y se lleva a continuación a desecar en estufa a 105° C hasta peso constante. Tras volver a pesar se obtienen, a partir de estos valores, los resultados correspondientes al contenido en agua que son referidos a tanto por ciento.

2.1.2.2.2.- Bacterias sulfooxidantes.

Se emplean las técnicas descritas por Pochon y Tardieux -- (1962).

Medio de cultivo: Consiste en una solución de sales minerales, donde el azufre es suministrado bajo forma de azufre elemental.

Fosfato bipotásico (Probus)	0,25 g
Cloruro magnésico (Probus)	0,1 g
Cloruro sódico (Probus)	0,1 g
Nitrato amónico (Merck)	2,0 g
Carbonato cálcico (Probus)	5,0 g
Agua desionizada c.s.p.	1000 ml

Este medio se reparte en tubos de ensayo de 20 x 200 a razón de 5 ml de medio por tubo. A continuación se añade a cada tubo 50 mg de flor de azufre (Merck). Después se procede a la esterilización en autoclave durante 20 minutos a 115° C.

Siembra: Se utilizan las diluciones-suspensiones de suelo, preparadas por la técnica anteriormente mencionada, normalmente de la 10⁻¹ a la 10⁻⁸, a razón de 1 ml por tubo y cinco tubos por dilución. Seguidamente se llevan a incubar a estufa a 28° C procurando agitar por lo menos una vez al día, durante el período de incubación.

Lectura de los resultados: Después de las tres semanas de incubación, se extrae de cada tubo con la precaución de no agitar, uno o dos mililitros del líquido claro de la capa superior, se pasa a un tubo de ensayo limpio y se procede a la adición de dos gotas de ácido clorhídrico (Merck) y cinco gotas de solución acuosa de cloruro bario (Merck) al 5 %.

La presencia de sulfato, procedente de la oxidación del azufre, se traduce en la formación de un precipitado blanco de sulfato de bario, considerando en tal caso, el tubo positivo.

2.1.2.2.3.- Bacterias sulfatoreductoras. -- Se han seguido las técnicas de Pochon y Tardieux -- (1962) y de Baars (1930).

Técnica de Pochón y Tardieux (1962):

El medio consiste en una solución de sales minerales que además contiene una fuente de sulfato, otra de nitrógeno mineral y un donador de electrones.

Cloruro amónico (Panreac)	1 g
Fosfato bipotásico (Probus)	0,1 g
Sulfato magnésico (Probus)	2 g
Sulfato sódico (Panreac)	0,5 g
Cloruro cálcico (Panreac)	0,1 g
Lactato sódico en solución al 60 % (BDH)	6 ml
Agua desionizada c.s.p.	1000 ml

Se reparten en tubos de 10 x 150 a razón de 5 ml/tubo y después se procede a la esterilización en autoclave durante 20 minutos y 115° C.

Si el medio ha estado preparado con antelación al momento de la siembra, es necesario antes de realizar esta operación, calentarlo en baño maría a ebullición 15 a 20 minutos, para eliminar el oxígeno disuelto, enfriándolo - después rápidamente a temperatura ambiente.

En cada tubo y con ayuda de unas pinzas, se introduce un clavo de 2 cm, bien limpio con ácido clorhídrico diluido y agua destilada y esteril, siendo previamente esterilizado por inmersión en alcohol de 70° durante 30 minutos seguido de ligero flameado.

Siembra: La inoculación se realiza con 1 ml de dilución-suspensión en cada tubo. Se siembran tres tubos por dilución y normalmente se utilizan desde la 10^{-1} a 10^{-6} . Se llevan a incubar en anaerobiosis a 28° C. No se puede utilizar campana provista de catalizador de platino por ser intoxicado por el sulfhídrico que se produce. Generalmente basta hacer el vacío en un recipiente cerrado y realizar un lavado con hidrógeno.

Lectura de los resultados: El hierro metálico introducido en forma de clavo, además de asegurar el mantenimiento de un ambiente reducido, revela producción de sulfhídrico por la formación de sulfuro de hierro. Transcurridas tres semanas de incubación se anotan como positivos - aquellos tubos en los cuales se ha ennegrecido el clavo.

Técnica de Baars (1930):

El medio de cultivo empleado en la técnica de Baars, en esencia es el mismo, pero utilizando como reactivo de la producción de sulfhídrico la sal de Mohr en lugar del clavo indicado por Pochón y Tardieux.

2.1.2.2.4.- Interpretación de las -- lecturas.- Los resultados son dados por costumbre, según se deduce de la bibliografía consultada, como número más probable de microorganismos (NMP) que crecen en los medios selectivos utilizados y cuyo desarrollo se manifiesta por una actividad fisiológica inherente al mismo.

La determinación del NMP se deduce del llamado número característico, dependiente del número de tubos positivos encontrados en diluciones consecutivas. La constitución de dicho dato de tres cifras se lleva a cabo de la siguiente manera: el primer número normalmente 5 ó 3 (según sean las repeticiones por dilución realizadas) corresponde a la última dilución más alta para la cual todos -- los tubos son positivos, las cifras siguientes vienen dadas por el número de tubos positivos encontrados en las -- diluciones consecutivas. Este número característico, en -- las tablas de McCrady (Report, 1956; Posgate, 1969) pro-- porciona el NMP de microorganismos específicos contenido en el volumen de dilución sembrado (1 ml) y correspondien-- te a la dilución que representa la primera cifra que en-- tra a formar parte de dicho número característico. De este modo resulta fácil calcular el número de microorganismos que contiene un gramo de muestra, que después se re-- fiere a peso seco.

2.2.- Experiencias en invernadero.

2.2.1.- Estudios previos a las experiencias en -- invernadero.

2.2.1.1.- Diseño experimental.- Las experien-- cias en plantas cultivadas han sido realizadas en inverna-- dero. Se ha escogido uno de los diseños más utilizados en este tipo de experimentación: bloque al azar con cinco re-- peticiones. Este diseño es recomendado cuando las unida-- des experimentales pueden agruparse de acuerdo con los ni

veles de variación de una fuente de variabilidad (aplicación de azufre).

2.2.1.2.- Condiciones ambientales.- Teniendo en cuenta que las condiciones óptimas para las especies vegetales ensayadas son muy similares, se acondicionaron los dispositivos de que está dotado el invernadero (calefacción, refrigeración, iluminación, etc.), para mantener las siguientes condiciones con bajos límites de oscilación:

Temperatura diurna	26°	±	2°	C
Temperatura nocturna	18°	±	1°	C
Humedad relativa {	Diurna	55	-	65 %
	Nocturna	80	-	85 %

A lo largo de todas las experiencias se mantuvo constante el fotoperíodo por compensación con luz artificial, habiendo sido fijado en 16 horas de luz de la intensidad adecuada (15.000 lumen/seg. ft.).

2.2.1.3.- Preparación de las macetas.- El empleo de macetas tiene la ventaja de que las respuestas dadas por el cultivo aparecen incrementadas, siendo posible apreciar y estudiar determinados fenómenos que escaparían a la observación en el campo.

Se han utilizado macetas de material plástico, de 1,2 litros de capacidad, con un orificio para drenaje en la parte inferior. Se han llenado con 1 Kg de suelo tamizado (tamiz 2 mm de luz de malla) seco al aire y 2 % de materia orgánica (estiercol de oveja). La mezcla de ambos componentes es bien homogeneizada antes de proceder a su llenado.

Una vez separadas se colocan en una pequeña batea o platillo que evita las pérdidas de nutrientes por lixiviación, al pasar el agua de riego previamente por dicho soporte.

Las macetas correspondientes al ensayo "suelo cubierto" (SC) se cubren en el momento de efectuar la aplicación de azufre con una película de material plástico para evitar la caída del elemento pulverizado al suelo y al platillo, bien directamente o por eventual caída por goteo de

la suspensión depositada sobre las hojas. Transcurrido un período de seis horas, a partir del momento de aplicación, se procede a retirar el plástico protector, que si permanece mucho tiempo crea un ambiente cerrado en la superficie del suelo, que además de crear problemas a éste, introduce modificaciones o diferencias entre los lotes.

2.2.1.4.- Tipo de suelo y materia orgánica utilizado: determinaciones analíticas.- De los 5 tipos de suelos estudiados en el laboratorio en incubación, fué --elegido el suelo II, pardo rojo calizo, sobre sedimentos finos y profundos, recogido a una profundidad de 0-30 cm, pobre en materia orgánica, estructura granular con poros, y buen drenaje. Dicho tipo de suelo fué tomado de una zona de olivar de la finca "Arenales" próxima a Granada.

La materia orgánica que se adicionó a las macetas en la proporción mencionada, fué estiercol de oveja bien descompuesto.

Los análisis de suelo se realizaron siguiendo los métodos analíticos de la Estación Experimental del Zaidín -- basados en las técnicas siguientes:

- Análisis granulométrico, por la técnica de Bouyoucos (1951).

- Materia orgánica según el método de Lachica et al. (1961). Basado en la oxidación con dicromato potásico en sulfúrico concentrado.

- Nitrógeno, siguiendo la técnica de Bouat y Crouzet (1965), basándose en el método de Kjehldahl.

- Fósforo, como P_2O_5 , siguiendo la técnica colorimétrica, determinando el color del complejo fosfomolibdato amónico de Capitán y Martínez (1954).

- Potasio, como K_2O , por la técnica de Capitán y García (1957).

2.2.2.- Períodos de cultivo.

Se tuvieron en cuenta en las plantas utilizadas dos

períodos de cultivo diferentes.

2.2.2.1.- Período de germinación.-

i.- Experiencias en rábanos: Las semillas utilizadas tenían un índice de germinación del 99 %. Se pusieron en imbibición con agua a 25° C durante 24 horas, sembrando a continuación varias semillas por maceta y siendo regadas seguidamente sin sobrepasar la capacidad de campo del suelo. Se mantuvieron en invernadero hasta la emergencia de las plántulas, alrededor de una semana. Una vez emergieron se dejaron tres por maceta (replicado).

ii.- Experiencia en judías: Las semillas de esta planta fueron tratadas previamente con ortodipholatan, como agente desinfectante, utilizando la concentración del agente y tiempo de exposición al mismo propuesto por Barea et al. (1971). Posteriormente, se lavaron con agua distribuyéndose regularmente sobre bateas de polietileno, que contienen una capa de arena de cuarzo húmeda (Justice, 1952) cubriéndose después con otra capa de arena seca que fue humedecida para mantener el semillero en condiciones óptimas de humedad y aireación. Las bateas se colocaron en estufa a 28° C durante 72 horas, manteniendo en ese período la humedad perdida por evaporación. Transcurrido este tiempo, las semillas que habían germinado, fueron transplantadas a las macetas a razón de uno o dos semillas por maceta, de acuerdo con el tipo de experiencia.

2.2.2.2.- Período de crecimiento y desarrollo.- Las macetas convenientemente rotuladas según tratamiento y repeticiones, se distribuyeron al azar en el invernadero. En todas las experiencias realizadas se llegó hasta fructificación. El agua de riego se adicionó, en cada una de las macetas, según un cálculo previo de la humedad equivalente.

Así mismo, cada una de las macetas recibió una fertilización P-K correspondiente, tomando como base el peso de la capa arable de una hectárea y evitando el empleo de formas químicas que contengan azufre (20 ml de solución - PO_4HK_2 13,87 por mil, equivalente a 0,15 g de K_2O y 0,1 g de P_2O_5 por maceta).

2.2.3.- Tratamientos.

2.2.3.1.- Pulverización con azufre.- Los --
tratamientos han consistido en la aplicación de 0,3 g de
azufre soluble micronizado (Orto-flotox Macaya, solución
al 1 %), mediante pulverizaciones con un humectante al --
0,1 % (Macaya) y a una distancia de 40 cm de la planta si
siguiendo las cuatro orientaciones.

Se empezaron a efectuar las aplicaciones diez días -
después del replicado, realizándose siguiendo los esque--
mas a continuación indicados:

Experiencias en judia (tipo A)

Suelo	SNC (no cubierto)					SC (cubierto)				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tratamientos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Epoca de apli- cación S (día)	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60
Cantidad de S g/maceta(total)	0,0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,0	0,3	0,3	0,3	0,3

Experiencias en judia (tipo B)

Suelo	SNC (no cubierto)					SC (cubierto)				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tratamientos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Epoca de apli- cación S (días)	0	7	15	21	28	0	7	15	21	28
Cantidad de S g/maceta(total)	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5

Experiencias en rábanos

Suelo	SNC (no cubierto)					SC (cubierto)				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tratamientos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Epoca de apli- cación S (días)	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60
Cantidad de S g/maceta(total)	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5

En las experiencias en judia tipo A, las pulverizaciones no son acumulativas y se realizan cada 15 días. - En las experiencias tipo B se acumulan y se acorta el período entre cada tratamiento a 7 días. Estos cambios introducidos en las experiencias tipo B, se realizan a la vista de los resultados obtenidos en las experiencias tipo A.

2.2.3.2.- Inoculación con Rhizobium.- Habiéndose observado que en algunas experiencias con judias las raíces carecían de nódulos, se realizaron otras con diseño semejante a las anteriores, pero incluyendo la inoculación previa de las semillas utilizadas con Rhizobium específico. Para ello, se obtuvo el inóculo por cultivo de una raza activa de Rhizobium phaseoli durante 48 horas a 28° C en matraces de 250 ml en agitación (agitador New Brunswick, 140 rpm, 1 pulgada de excentricidad).

El medio utilizado fué el de 79 Allen (Allen, 1951):

Fosfato bipotásico (Probus)	0,6 g
Sulfato magnésico (Probus)	0,2 g
Carbonato cálcico (Probus)	3,0 g
Cloruro sódico (Probus)	0,2 g
Manita (Merck)	7,6 g
Glucosa (Merck)	2,4 g
Extracto de levadura al 1 % (1)	260 ml
Agua desionizada	740 ml

Se ajusta a pH 7 - 7,5.

- (1) El extracto de levadura es el filtrado procedente de la ebullición de 250 g de levadura de panadería en 2 litros de agua durante 3 horas.

Se inoculó en las proximidades de la raíz 5 ml del inóculo preparado, diluido a una densidad de 1×10^8 células/ml, en el momento del trasplante de las plántulas de judias. Si bien la forma correcta de realizar la bacterización de leguminosas es la impregnación previa de semillas, en el caso concreto de las experiencias realizadas aquí, se introdujo esta variante, al utilizar plántulas obtenidas aparte.

Con objeto de observar el resultado de la inoculación se trataron cinco macetas con la misma suspensión -

de Rhizobium muertos por el calor (autoclave a 120° C, 20 minutos).

2.2.4.- Determinaciones practicadas.

2.2.4.1.- Determinaciones microbiológicas en el suelo.

Antes de efectuar cada pulverización, se toman muestras de suelo de todos los tratamientos para estudiar la evolución de la flora microbiana del azufre y la del nitrógeno que interesa. Para reducir al mínimo la variabilidad debida al efecto rizosfera, se realiza la toma de suelo con espátula, de los cinco cm superiores, de forma normalizada en todas las macetas, reuniendo después las cinco correspondientes a cada tratamiento y pasando por un tamiz de 1 mm de luz de malla para eliminar los trozos de raíz que se encuentren presentes.

2.2.4.1.1.- Microorganismos del ciclo del azufre.

2.2.4.1.1.1.- Sulfooxidantes.

2.2.4.1.1.2.- Sulfatoreductor.

Las técnicas utilizadas para estas determinaciones fueron anteriormente descritas en el apartado correspondiente a los estudios realizados en los suelos incubados en el laboratorio.

2.2.4.1.2.- Microorganismos del ciclo del nitrógeno.

2.2.4.1.2.1.- Actividad amonificante.- Ha sido seguida la técnica de la tirosina (De Barjac y Pochon, 1953) modificada por Gallardo (1971). En este caso se ha preferido el método gráfico al de la determinación del número más probable de microorganismos amonificantes.

Su fundamento consiste en investigar en medio líquido repartido en tubos e inoculados con las correspondientes -

diluciones de la muestra problema, la desaparición de un substrato nitrogenado (con nitrógeno-amino) como puede ser la tirosina, en función del tiempo de incubación y de la dilución sembrada.

Medio de cultivo: Consiste en una solución saturada de tirosina (Sigma) en la llamada solución salina standard, que se prepara agitando fuertemente durante 24 horas 0,5 g del aminoácido en la solución standard diluída 1:20. Después de filtrar por papel y esterilizar mediante filtración por milipore de 0,45 micras de poro, se re parte en tubos estériles de 25 x 150 a razón de 25 ml de medio por tubo.

La solución salina standard tiene la siguiente composición:

Fosfato bipotásico (Probus)	5 g
Sulfato magnésico (Probus)	2,5 g
Cloruro sódico (Probus)	2,5 g
Sulfato férrico (Panreac)	0,05 g
Sulfato manganésico (Probus)	0,05 g
Agua	1000 ml

Se lleva a pH 7.2 con sosa al 1/10 y se esteriliza en autoclave a 112° C durante 20 minutos.

Aunque a veces se describe la adición de una solución de microelementos a los medios en los que se utiliza esta solución salina, si la fórmula indicada se prepara con productos de grado comercial o químicamente puros, no es necesaria la incorporación de estos elementos trazas para obtener buenos resultados.

Siembra: Normalmente se utilizan las diluciones 10^{-1} a 10^{-8} sembrando un tubo por dilución a razón de 2,5 ml por tubo. La incubación se realiza a 28° C durante 21 días.

Lectura e interpretación de los resultados: Se lleva a cabo los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 y 21 después de la siembra y se realiza investigando en cada uno de los tubos la presencia o ausencia de tirosina, mediante la siguiente técnica:

Del tubo objeto de estudio se recoge con pipeta es-

teril, aproximadamente 1 ml de líquido. A éste se le añaden dos gotas de reactivo de Millón y cinco gotas de ácido acético concentrado (R.A.), a continuación se lleva la mezcla a baño maría a 40° C durante 30 minutos. Los tubos que contienen tirosina se colorean de rojo y en los que ha desaparecido permanece el medio incoloro. Puede suceder también, que aparezca un tinte color rosa pálido, como signo intermedio de que la tirosina no ha sido degradada totalmente.

Considerando las diluciones más altas donde el medio queda incoloro y el día en que esto ocurre, se traza una gráfica que muestra la gradual desaparición de la tirosina, llevando a abcisas los tiempos, en días, y a ordenadas las diluciones. El poder amonificante de la correspondiente muestra queda patente de acuerdo con la pendiente de la gráfica respectiva.

Independientemente de esto, para representar gráficamente en conjunto los resultados obtenidos en los distintos tratamientos, se ha tenido como base el décimo día y como variable las diluciones en que desaparece el color, habiéndose construido, por tanto, la figura colocando en abcisas tratamientos y en ordenadas la más alta dilución donde desaparece la tirosina en tal fecha.

2.2.4.1.2.1.- Determinación de microflora nitrificante.- Se emplean las técnicas descritas por Pochon y Tardieux (1962) original de Coppier y De Barjac (1952), en la cual con los medios líquidos apropiados se determina el número más probable de microorganismos.

i.- Bacterias nitrosas.- En este apartado se investigan los microorganismos que oxidan el nitrógeno amoniacal a nitroso.

Medio de cultivo:

Solución salina standard	50 ml
Sulfato amónico (Probus)	0,5 g
Carbonato cálcico (Probus)	1 g
Agua desionizada	950 ml

Se reparten en tubos de 10 x 100, de los llamados de hemolisis, a razón de 1 ml por tubo y se esteriliza al --

autoclave a 110° C durante 20 minutos.

Siembra: Se han utilizado las diluciones 10^{-1} a 10^{-6} , que son sembradas en cinco tubos por dilución a razón de 0,5 ml por tubo. A continuación se llevan a incubar 20 días a 28° C. Hay que tener la precaución de agitar durante los dos o tres primeros días de incubación, procurando poner en suspensión el carbonato cálcico que tiene el medio para neutralizar los ácidos formados.

Lectura de los resultados: Se busca en todos los tubos la presencia de nitritos por medio del reactivo de la difenilamina sulfúrica.

El modo de operar es el siguiente: transcurrido el período de incubación se vacían totalmente los tubos de tal manera que solamente contengan una o dos gotas de medio de cultivo sobre las que se vierten 10 gotas de ácido sulfúrico y 10 gotas de reactivo de difenilamina sulfúrica.

La presencia de nitritos (reacción positiva) se traduce en la aparición de un color azul, tanto más intenso cuanto mayor sea la concentración.

ii.- Bacterias nítricas.- Se investigan los microorganismos capaces de oxidar nitritos a nitratos.

Medio de cultivo:

Solución salina standard	50 ml
Nitrito sódico (Probus)	1 g
Carbonato cálcico (Probus)	1 g
Agua desionizada	950 ml

Se reparten, como en el caso anterior, en tubos de hemólisis a razón de 1 ml por tubo. La esterilización es similar.

Siembra: Las diluciones normalmente utilizadas fueron desde la 10^{-1} a 10^{-6} y todas las operaciones realizadas en todo momento fueron semejantes a las llevadas a cabo con las bacterias nitrosas.

Lectura de los resultados: Se investiga en todos los tubos la presencia de nitratos, con el reactivo de la di-

fenilamina sulfúrica, después de haber eliminado los nitritos no transformados.

Para ello, se vacían todos los tubos de igual forma a lo indicado anteriormente, con respecto a los nitritos. En cada uno de ellos se vierten 50 mg de urea (Probus) (aproximadamente la punta de una espátula), 10 gotas de ácido sulfúrico y 10 gotas de reactivo de difenilamina sulfúrica.

La presencia de nitratos, como se ha indicado antes, queda patente con la aparición de un color azul oscuro e intenso.

Los resultados pueden darse:

a) Mediante un índice. Concediendo a cada tubo positivo el valor de 0,2 por lo que la suma total de los valores, resultaría ser el índice de la respectiva actividad en bacterias nitrosas o nítricas.

b) Por el número más probable de microorganismos (el utilizado en este trabajo). En este sentido, al igual que en la determinación de microorganismos del ciclo del azufre se recurre a las tablas de McCrady. La única variante a tener presente consiste en que en este caso el volumen de dilución sembrado es de 0,5 ml, mientras que en aquél era de 1 ml.

2.2.4.2.- En la planta.

2.2.4.2.1.- Determinaciones fisiológicas.- En cada maceta y en cada una de las experiencias de invernadero se han ido anotando a lo largo del ciclo vegetativo de la planta una serie de datos enumerados a continuación:

- i Fecha de inicio de la floración.
- ii Número de flores nuevas producidas cada dos días.
- iii Fecha de inicio de la fructificación.
- iv Número de flores que cada dos días se convierten en frutos.
- v Frutos cortados que habían alcanzado un tamaño mínimo de 5 cm de longitud.
- vi Peso fresco de los frutos cortados.

- vii Peso fresco del resto de la parte aérea de la planta.
- viii Peso fresco de la raíz (experiencia en rábano)
- ix Peso seco correspondiente a frutos y partes aéreas.

2.2.4.2.2.- Elementos minerales.- Se analizó N, P y K en el material recogido.

Las plantas se recolectaron separando el brote (tallo y hojas) de la raíz. En las experiencias de judía se eliminaron, de la porción brote, los frutos correspondientes para su posterior e independiente análisis.

El material obtenido se secó inmediatamente para reducir al mínimo las alteraciones, tanto biológicas como químicas, que pueden ocurrir en el metabolismo de la planta si se prolongase el tiempo transcurrido entre la recolección y el secado. Se realizó éste a 60° C en estufa -- con corriente forzada de aire durante 24 horas transcurridas las cuáles se determinó el peso seco.

La muestra así obtenida se trituró hasta dejarla con vertida en un polvo fino y homogéneo con molinillo de material plástico. La muestra molida se conservó, para posterior análisis de los nutrientes, en bolsas de plástico convenientemente rotuladas guardadas en desecador.

Para la determinación de N P K se utilizó la mineralización propuesta por ~~Bech~~ Tracey (1966) y descrita -- por Lachica en C.I.A.F. (1969). En ella, se usa como mezcla mineralizadora ácido sulfúrico concentrado y agua oxigenada diluída al 30 %. La determinación de los tres elementos se lleva a cabo en otras tantas alícuotas del mineralizado. Para el nitrógeno, se utilizó el método de Kjehldahl, utilizando el aparato descrito por Bouat y Groucet (1965). El fósforo se analizó por determinación colorimétrica del complejo fosfomolibdico reducido por acción del amidol, según el método propuesto por Capitán y Martínez (1954) y descrito por Lachica et al. (1965). Para el potasio se empleó la técnica fotométrica de llama, descrita por Lachica et al. (1965).

2.2.4.2.3.- Determinación de clorofila.- La cantidad de clorofila presente en hoja fué deter-

minada según la técnica de MacKinney (1941). Los cálculos se realizaron según dos ecuaciones en las cuales intervienen los coeficientes de adsorción específicos para las clorofilas a y b, propuestos por MacKinney (1941) y unificados por Arnon (1949), que obtiene por extrapolación el valor de un coeficiente de absorción específico para la longitud de onda utilizada en la lectura (652 nm) resultando ser este coeficiente de 34,5.

La ecuación aplicada para obtener la cantidad de clorofila total expresada en mg/ml es la siguiente:

$$C = \frac{D_{652}}{34,5}$$

La extracción del material se realizó con acetona al 80% v/v en baño maria a 40° C. Los extractos fueron llevados a un volumen de 100 ml. Se midió la densidad óptica de los extractos obtenidos en un espectrofotómetro "Spectronic 20" a una longitud de onda de 652 nm.

La ecuación utilizada expresada en mg de clorofila/g de material vegetal, peso seco, fue:

$$C = \frac{D_{652}}{34,5} \times \frac{100}{b}$$

siendo b la cantidad de material vegetal, expresada en peso seco.

2.2.4.2.4.- Respuesta a la inoculación bacteriana.- Se ha observado esta respuesta, por recuento de los nódulos correspondientes a las plantas de cada maceta, una vez limpiadas las raíces de los restos del suelo, por inmersión en agua. Se determinó el número y peso de los mismos, independientemente de su tamaño, color y localización.

Este último dato, se obtiene después de ser bien separado de las raíces y secados a 60° C, durante 24 horas en estufa de aire forzado.

2.2.4.2.5.- Determinación de azufre.

Para la mineralización de la muestra, se empleó el método por vía húmeda de Bethge (1954), consistente en el ataque de la muestra con mezcla nítrico-perclórica, utili-

zando como catalizador m-vanadato amónico.

En la determinación de azufre se utilizó el método fotométrico de Lachica (1964), en el que se realiza la precipitación con azufre al estado de sulfato bórico, utilizándose un agente tensioactivo para mantener en suspensión dicho precipitado con vistas a su posterior determinación / turbidimétrica.

2.2.4.2.6.- Determinación de aminoácidos.- Para la determinación de aminoácidos presentes en las muestras vegetales, se partió de 0,5 g de materia seca (mezcla de las repeticiones) de cada uno de los tratamientos realizados en las hojas de judía. Las muestras se hidrolizaron en tubos apropiados, provistos de un estrechamiento en su parte media con ac. clorhídrico 6N. El contenido de los tubos se congeló en mezcla acetona-nieve carbónica, se hizo el vacío de unas 20 micras y se cerraron a la llama por la zona estrechada.

La hidrólisis se llevó a cabo a 110° C durante 24 horas. El hidrolizado se centrifugó, para eliminar el material insoluble a 5000 rpm durante 10 minutos, pasándose el sobrenadante y las aguas de lavado del sedimento a un matraz de rotovapor donde se eliminó el clorhídrico a una temperatura de 40° C y a presión reducida (rotavapor Buchi) haciendo un par de lavados y evaporación sucesiva con agua destilada. Finalmente se llevó a sequedad. El hidrolizado se disolvió en un volumen conveniente de tapón citrico-citrato 0, 2N en Na⁺ pH 2.2.

Se ha utilizado un autoanalizador de aminoácidos "Jelol", modelo JLC 6AH, provisto de sistema de doble columna: una corta para aminoácidos básicos, estabilizada y eluida con tapón citrico-citrato sódico Na⁺ 0,2N pH 5,3 y una larga para aminoácidos ácidos y neutros, estabilizada y eluida con tapón citrico-citrato en Na⁺ 0,2N pH 3,28 primero y citrico-citrato en Na⁺ 0,2N pH 4,3 después. El aparato está equipado con inyección automática de muestras.

La determinación cuantitativa de cada aminoácido se efectúa por comparación de dichas áreas con las dadas por una solución standard de aminoácidos (0,1 M/ml de cada uno de ellos) fraccionada de una manera similar y paralela a las muestras problema.

RESULTADOS

1.- RESULTADOS DE LAS DETERMINACIONES REALIZADAS EN LOS SUELOS DE PARTIDA Y EN EXPERIENCIAS DE INCUBACION.

1.1. Determinaciones no biológicas.

1.1.1. Humedad equivalente.

En la tabla I se exponen los datos referentes a la humedad equivalente encontrada para cada suelo, a dos tercios de la cual se han llevado todos ellos para someterlos al período de incubación.

Tabla I.- Humedad equivalente de cada tipo de suelo expresada en ml de agua correspondientes a 100 g de suelo.

<u>Suelo</u>	<u>Humedad equivalente*</u>
I	18.43
II	27.61
III	30.33
IV	41.77
V	28.99

* Valores medios de 3 repeticiones.

1.1.2. Contenido en materia orgánica.

En la tabla II se exponen los resultados correspondientes al contenido de materia orgánica de las muestras tomadas semanalmente de cada suelo durante el período de incubación. Se han expresado los datos en gramos de materia seca por 100 g de suelo y para hacer más patentes los resultados se han representado los valores en la Figura 2.

Tabla II.- Contenido de materia orgánica de las muestras de suelo tomadas semanalmente, expresado en g/100 g de suelo.

<u>Suelo</u>	<u>Tiempo de incubación (semanas)</u>							
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>
I	1,45	0,67	1,04	1,50	1,64	1,75	1,71	1,55
II	1,58	0,54	0,47	0,97	1,00	1,21	1,28	1,21
III	1,02	0,47	0,74	1,14	1,38	1,31	1,24	1,21
IV	1,08	2,05	2,10	2,15	2,85	2,82	2,80	2,72
V	0,94	0,50	0,60	0,67	0,97	1,04	1,07	0,90

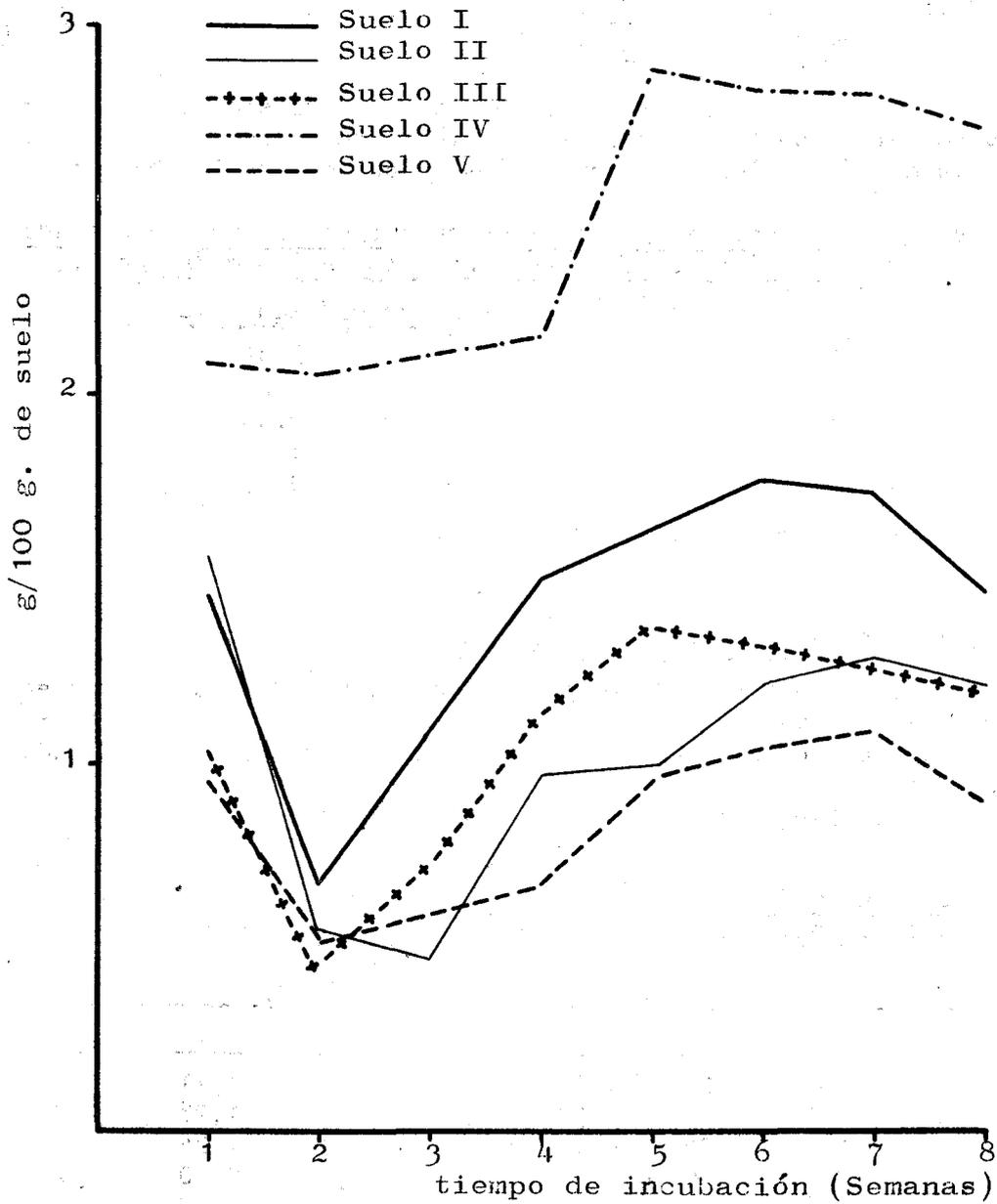


Fig. 2.- Evolución de la materia orgánica en los distintos tipos de suelos, a lo largo del periodo de incubación.

1.1.3. Contenido en azufre asimilable.

En la tabla III se expresan los resultados obtenidos en la determinación de azufre asimilable por las plantas en los diversos tipos de suelo estudiados.

Tabla III. Contenido de azufre asimilable, expresado en mg de azufre/g de suelo.

<u>Suelo</u>	<u>mg de S/100 g de suelo</u>
I	0.79
II	2.61
III	4.06
IV	13.07
V	100.00

1.2. Determinaciones microbianas.

En las tablas IV y V se expone la evolución de la microflora sulfooxidante y sulfatorreductora respectivamente, expresadas en número más probable de microorganismos por gramo de suelo, peso seco, presentes en cada muestra ensayada, a lo largo del período de incubación.

Tabla IV.- NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en las muestras tomadas a lo largo del período de incubación. El dato real corresponde al valor indicado x 10⁵.

<u>Suelo</u>	<u>Tiempo de incubación (semanas)</u>							
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>
I	4.3	0.4	1.0	3.0	0.4	0.2	0.13	0.16
II	1.5	0.5	1.9	0.7	0.3	0.2	0.08	0.06
III	7.1	9.9	4.9	4.8	4.7	4.6	0.9	0.2
IV	23.8	41.4	40.8	47.7	26.5	6.5	5.3	3.6
V	0.7	0.5	0.5	0.4	0.4	0.16	0.16	0.16

Tabla V.- NMP de sulfatorreductores/gramo de suelo, peso seco, en las muestras tomadas a lo largo del período de incubación. El dato real corresponde al valor indicado x 10⁵.

Suelo	Tiempo de incubación							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	-	-	-	0.03	0.017	0.018	0.004	-
II	-	0.005	-	-	-	-	-	-
III	0.005	0.013	0.021	0.1	0.06	0.015	0.005	0.004
IV	0.04	0.07	0.07	0.12	0.12	0.11	0.03	0.02
V	-	-	-	-	-	-	-	-

En las figuras 3 y 4 representamos gráficamente estas tablas anteriormente descritas, es decir, la evolución de los microorganismos oxidantes y reductores del azufre, respectivamente, a lo largo del período de incubación.

En las tablas VI y VII se representan los resultados correspondientes a microorganismos sulfooxidantes y sulfatorreductores en suelos incubados con adición de materia orgánica. Los datos reales corresponden a los números indicados multiplicados por 10⁵.

Tabla VI.- NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación, con adición de materia orgánica (x10⁵).

Suelo	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	51	12	39	44	150	49	32	32
II	350	24	95	230	41	46	46	45
III	10	9	25	30	305	72	36	36
IV	1070	53	14	26	510	2200	2100	50
V	5	36	30	30	42	36	20	10

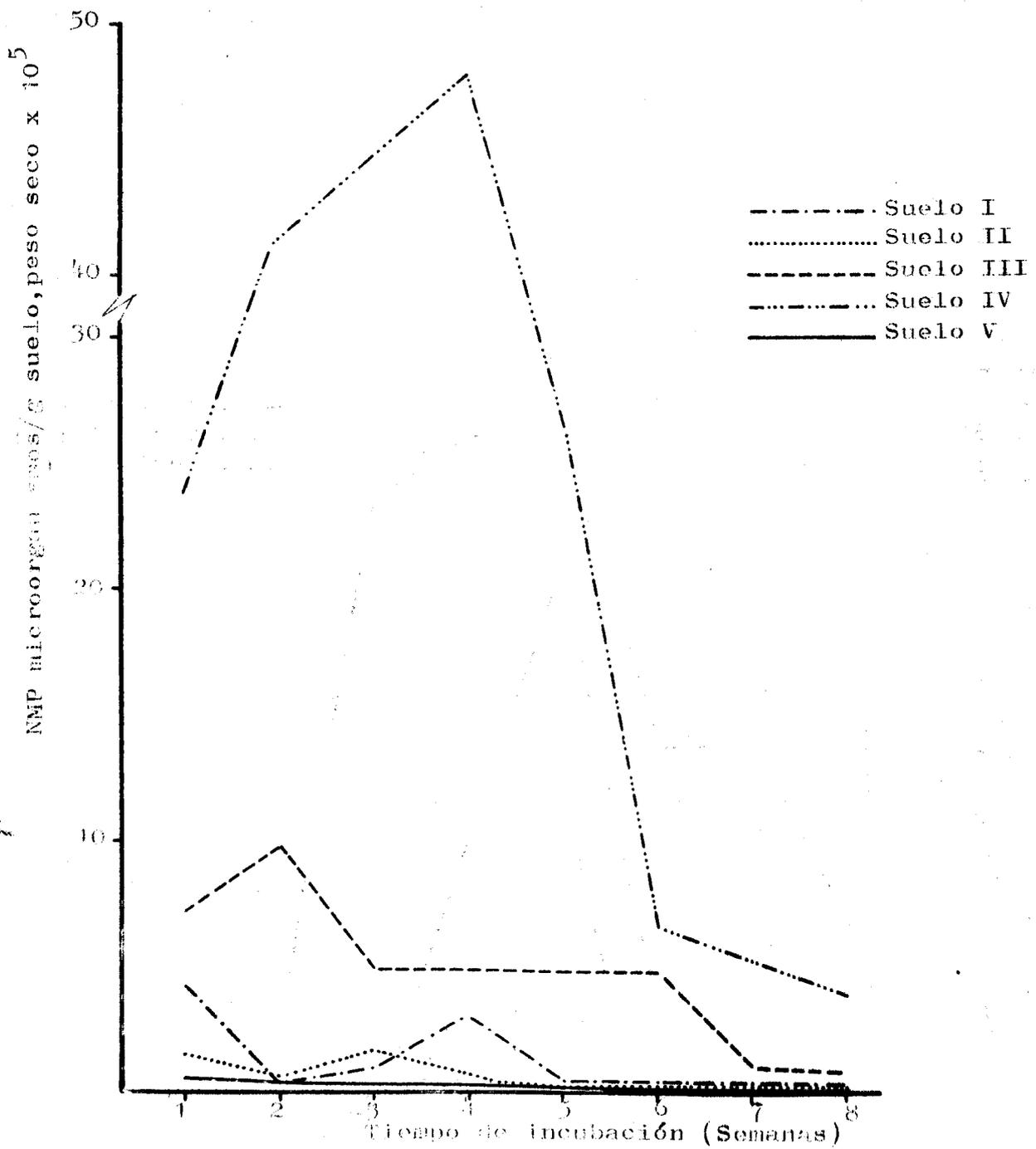


Fig. 3.- Evolución de los sulfooxidantes en los distintos tipos de suelos estudiados.

NMP microorganismos/g suelo, peso seco x 10⁵

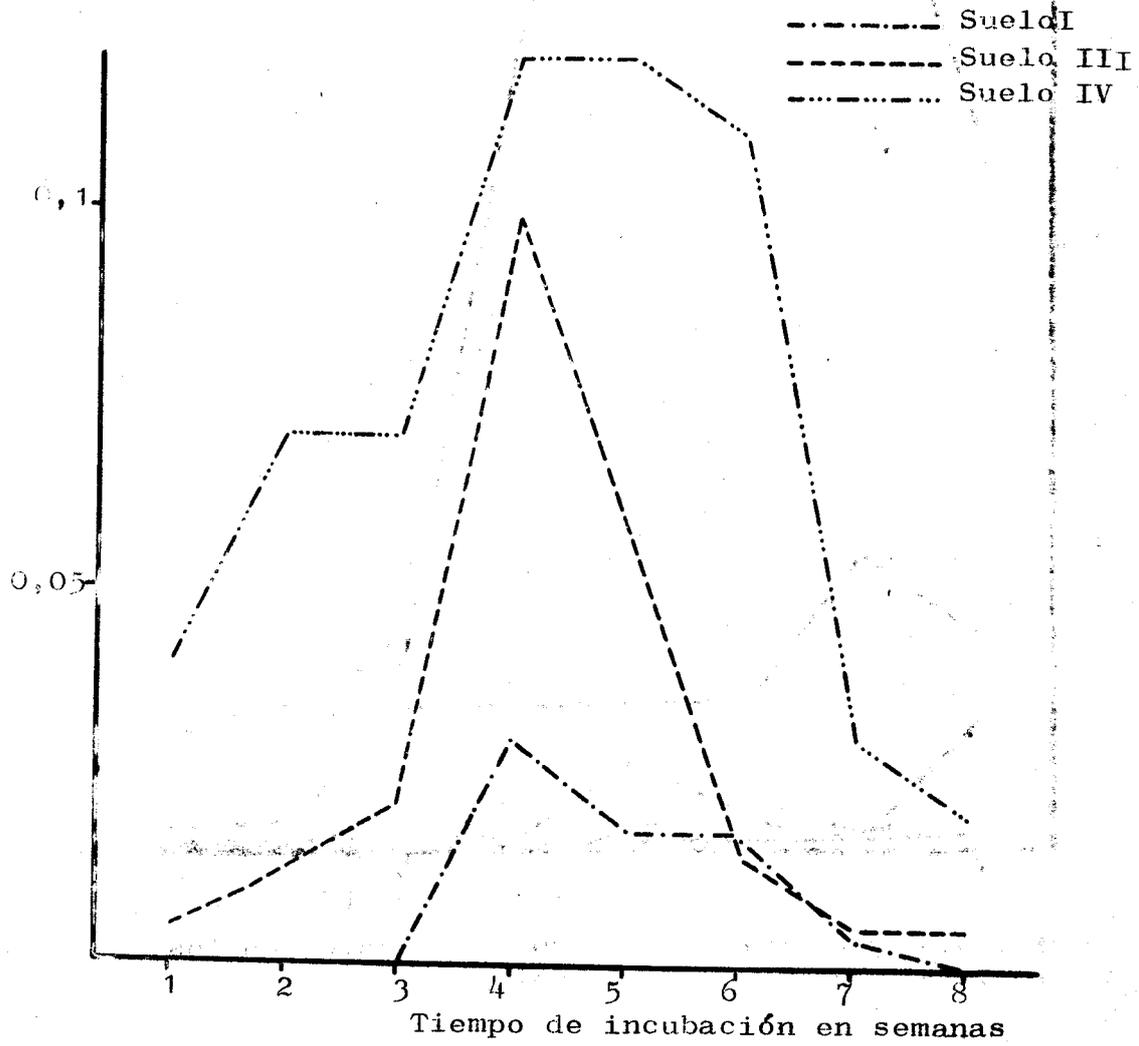


Fig. 4.- Evolución de sulfatorreductores en los distintos tipos de suelos estudiados.

Tabla VII. NMP de sulfatorreductores/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación, con adición de materia orgánica ($\times 10^5$).

Suelo	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	0.085	0.015	0.083	0.05	0.027	0.016	0.016	0.009
II	0.03	0.008	0.053	0.053	0.053	0.053	0.052	0.028
III	0.056	0.031	0.031	0.041	0.055	0.055	0.19	0.019
IV	0.36	1.8	6.0	5.9	5.7	2.5	2.9	1.3
V	0.3	0.3	0.49	0.11	0.3	0.3	0.3	0.3

En las tablas VIII y IX se representan los resultados correspondientes a microorganismos sulfooxidantes y sulfatorreductores, en suelos incubados con adición de azufre. Los datos reales corresponden a los números indicados multiplicados por 10^5 .

Tabla VIII. NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación con adición de azufre ($\times 10^5$).

Suelo	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	85.7	159	360	200	155	130	59	16
II	141	335	4693	621	218	140	43	21
III	200	1960	1500	106	36	31	38	16
IV	15430	9935	5719	2280	1530	401	119	49
V	351	477	147	110	10	6	2	0.1

Tabla IX. NMP de sulfatorreductores/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas semanalmente y a lo largo del período de incubación con adición de azufre ($\times 10^5$).

Suelo	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	0.0049	0.011	0.0048	0.029	0.297	0.297	1.128	0.023
II	0.062	0.033	0.059	0.058	0.039	0.057	0.144	0.185
III	0.136	0.161	2.046	0.598	0.122	0.121	0.190	0.056
IV	1.89	2.32	1.8	2.44	1.21	0.723	0.374	0.426
V	0.066	0.129	0.012	0.033	0.046	0.126	0.191	0.056

En las siguientes tablas X y XI se exponen los resultados correspondientes a microorganismos sulfooxidantes y sulfatorreductores en suelos incubados con la adición conjunta de materia orgánica y azufre.

Tabla X. NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación con adición de materia orgánica y azufre ($\times 10^5$).

Suelo	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	90	17	27	157	194	77	49	49
II	130	24	170	200	420	140	114	60
III	310	200	220	430	540	177	44	16
IV	4100	140	330	450	2300	2300	1500	1500
V	98	30	426	1330	420	430	210	130

Tabla XI. NMP de sulfatorreductores/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación con adición de materia orgánica y azufre ($\times 10^5$).

Suelo	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	0.028	0.028	0.022	0.022	0.105	0.049	0.049	0.049
II	0.03	0.115	0.115	0.011	0.03	0.048	0.054	0.054
III	0.118	0.024	0.31	0.055	0.055	0.03	0.03	0.011
IV	3.4	0.47	5.9	3.2	14.2	1.4	1.4	1.4
V	0.3	0.092	0.054	0.3	0.3	0.3	0.3	0.035

En las tablas XII, XIII, XIV, XV y XVI han sido agrupados por suelos los resultados expuestos en las tablas IV, VI, VIII y X, correspondientes al NMP de sulfooxidantes en los distintos suelos incubados solos o con adición de materia orgánica, azufre y materia orgánica más azufre. Para mayor claridad también se exponen las gráficas correspondientes a los datos representados: figuras 5, 6, 7, 8 y 9.

Tabla XII. NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación del suelo I (tierra parda), solo y con adición de materia orgánica, azufre y los dos conjuntamente. La cifra real corresponde al valor indicado x 10⁵.

	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Suelo	4.3	0.4	1	3	0.4	0.2	0.13	0.16
Suelo + S	87.5	159	360	200	155	130	59	16
Suelo + M.O.	51	12	39	44	150	49	32	32
Suelo+S+M.O.	90	17	27	157	194	77	49	49

Tabla XIII. NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación del suelo II (Pardo rojo calizo) solo y con adición de materia orgánica, azufre o los dos conjuntamente. La cifra real corresponde al valor indicado x 10⁵.

	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Suelo	1.5	0.5	1.9	0.7	0.3	0.22	0.08	0.06
Suelo + S	414	335	4693	621	218	140	43	21
Suelo + M.O.	350	24	95	230	41	46	46	45
Suelo+S+M.O.	130	24	170	200	420	140	114	60

Tabla XIV. NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación del suelo III (Rendšina syrosem) solo y con adición de materia orgánica, azufre o los dos conjuntamente. La cifra real corresponde al valor indicado x 10⁵.

	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Suelo	7.1	9.9	4.9	4.8	4.7	4.6	0.9	0.21
Suelo + S	200	1960	1500	106	36	31	38	16
Suelo + M.O.	10	9	25	30	305	72	36	36
Suelo+S+M.O.	310	200	220	430	540	177	44	16

Tabla XV. NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación del suelo IV (pardo de vega) solo y con adición de materia orgánica, azufre o los dos conjuntamente. La cifra real corresponde al valor indicado x 10⁵.

	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Suelo	23.8	41.4	40.8	47.7	26.5	6.5	5.3	3.6
Suelo + S	15430	9935	5719	2280	1530	401	119	49
Suelo + M.O.	1070	53	14	26	510	2200	2100	50
Suelo+S+M.O.	4100	140	330	450	2300	2300	1500	1500

Tabla XVI. NMP de sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, en muestras tomadas a lo largo del período de incubación del suelo V (Xerorendsina) solo y con adición de materia orgánica, azufre o los dos conjuntamente. La cifra real corresponde al valor indicado x 10⁵.

	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Suelo	0.7	0.5	0.5	0.4	0.4	0.16	0.16	0.16
Suelo + S	351	477	147	110	10	6	2	0.1
Suelo + M.O.	5	36	30	30	42	36	20	10
Suelo+S+M.O.	98	30	426	1330	420	430	210	130

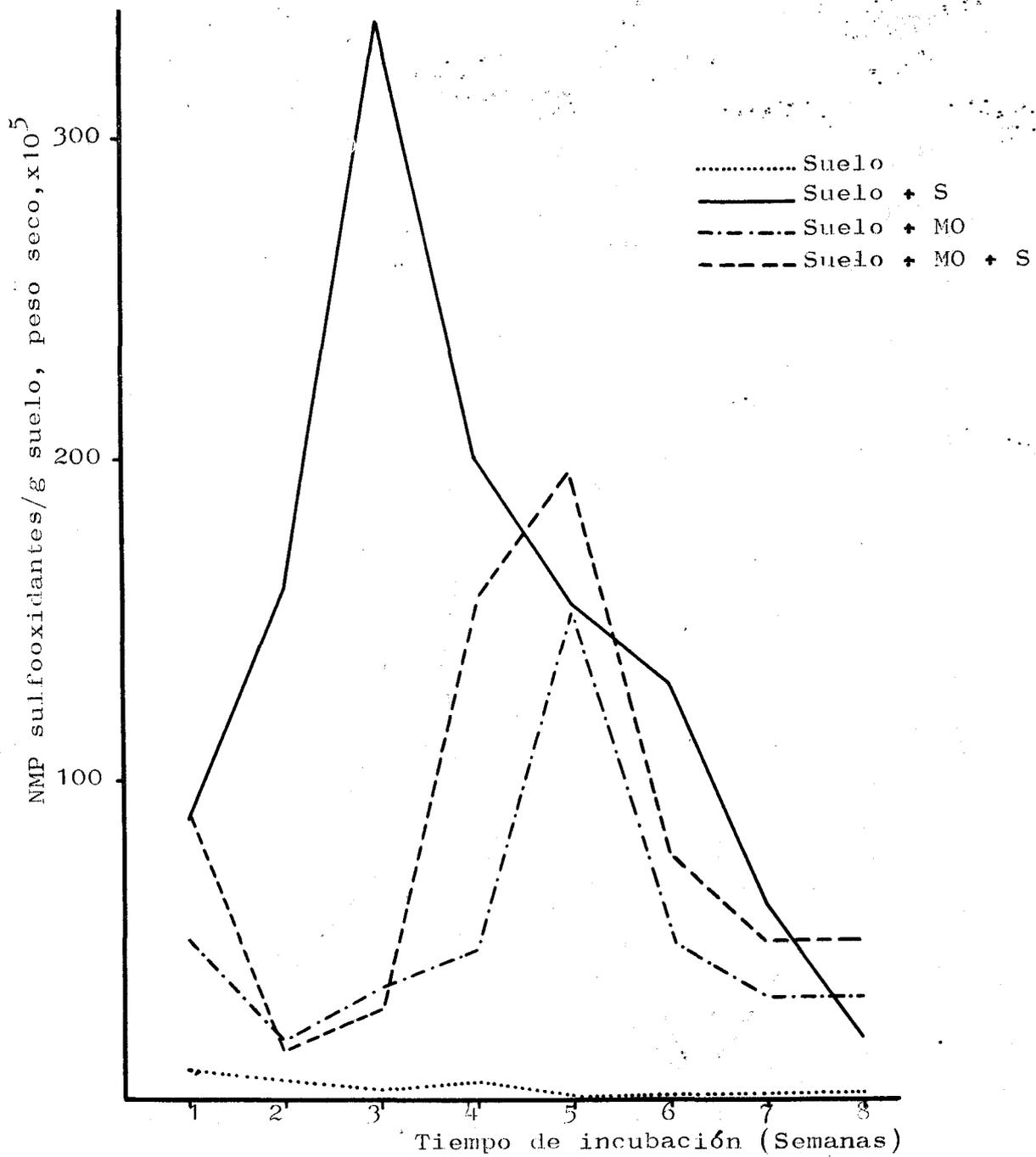


Fig. 5.- Evolución de la microflora oxidante del azufre en el suelo 1, incubado solo, con adición de azufre, materia orgánica y los dos conjuntamente.

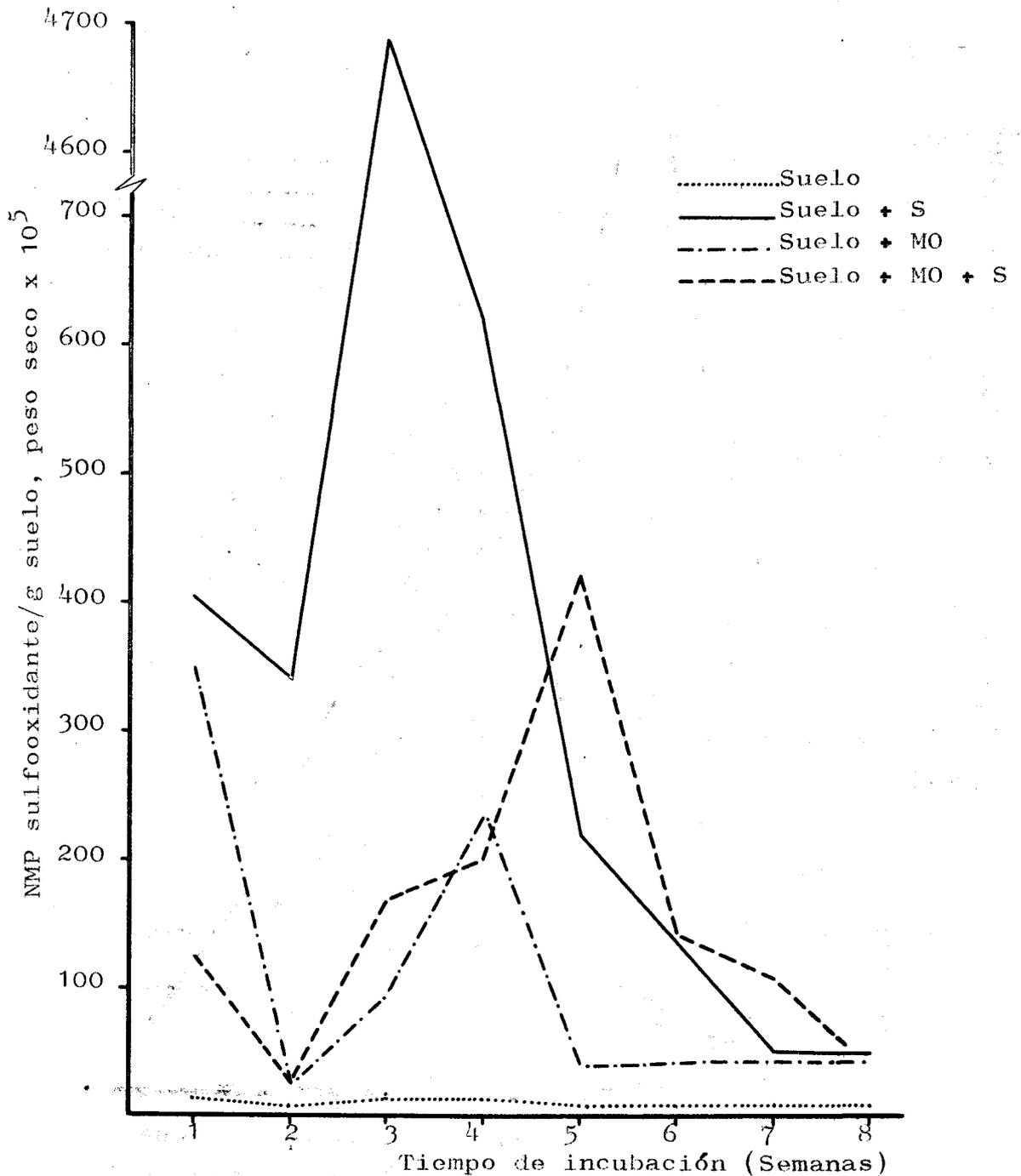


Fig. 6.- Evolución de la microflora oxidante del azufre en el suelo II, incubado solo, con adición de azufre, materia orgánica y los dos conjuntamente.

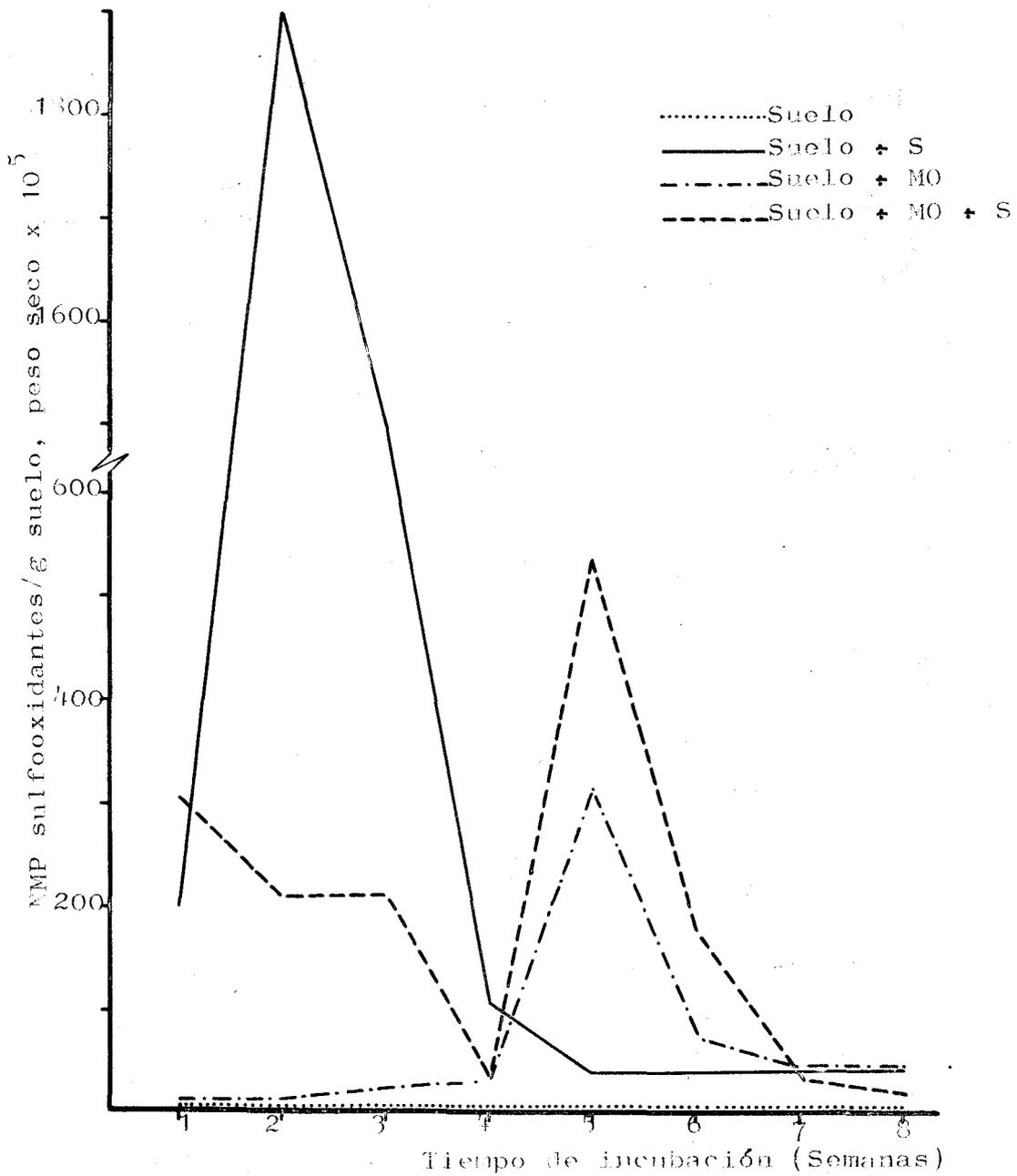


Fig. 7.- Evolución de la microflora oxidante del azufre en el suelo III incubado solo, con adición de azufre, materia orgánica y los dos conjuntamente a lo largo del periodo de incubación.

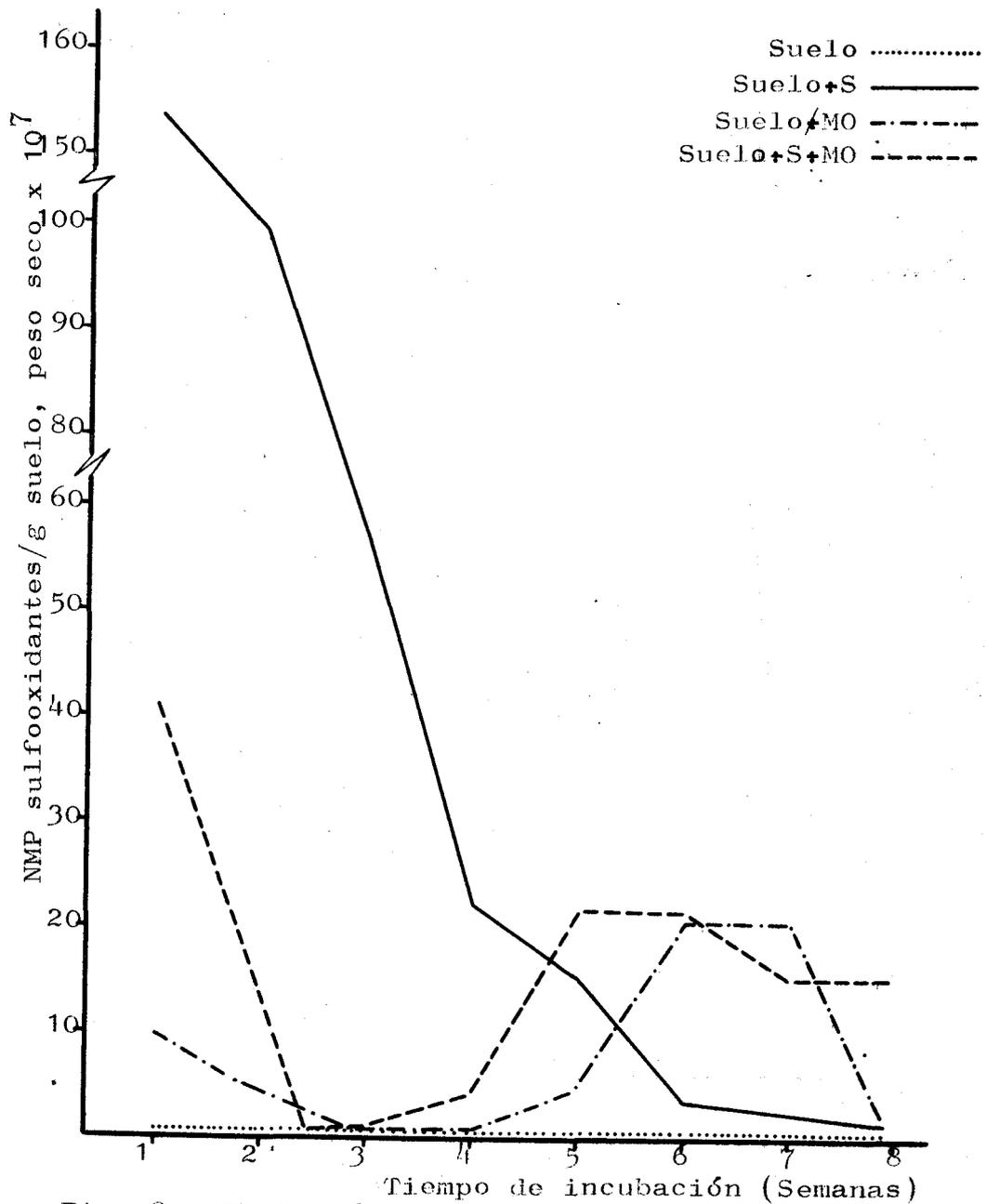


Fig. 8.- Evolución de la microflora oxidante del azufre en el suelo IV incubado solo, con adición de azufre, de materia orgánica y de los dos conjuntamente a lo largo del periodo de incubación. (semanas).

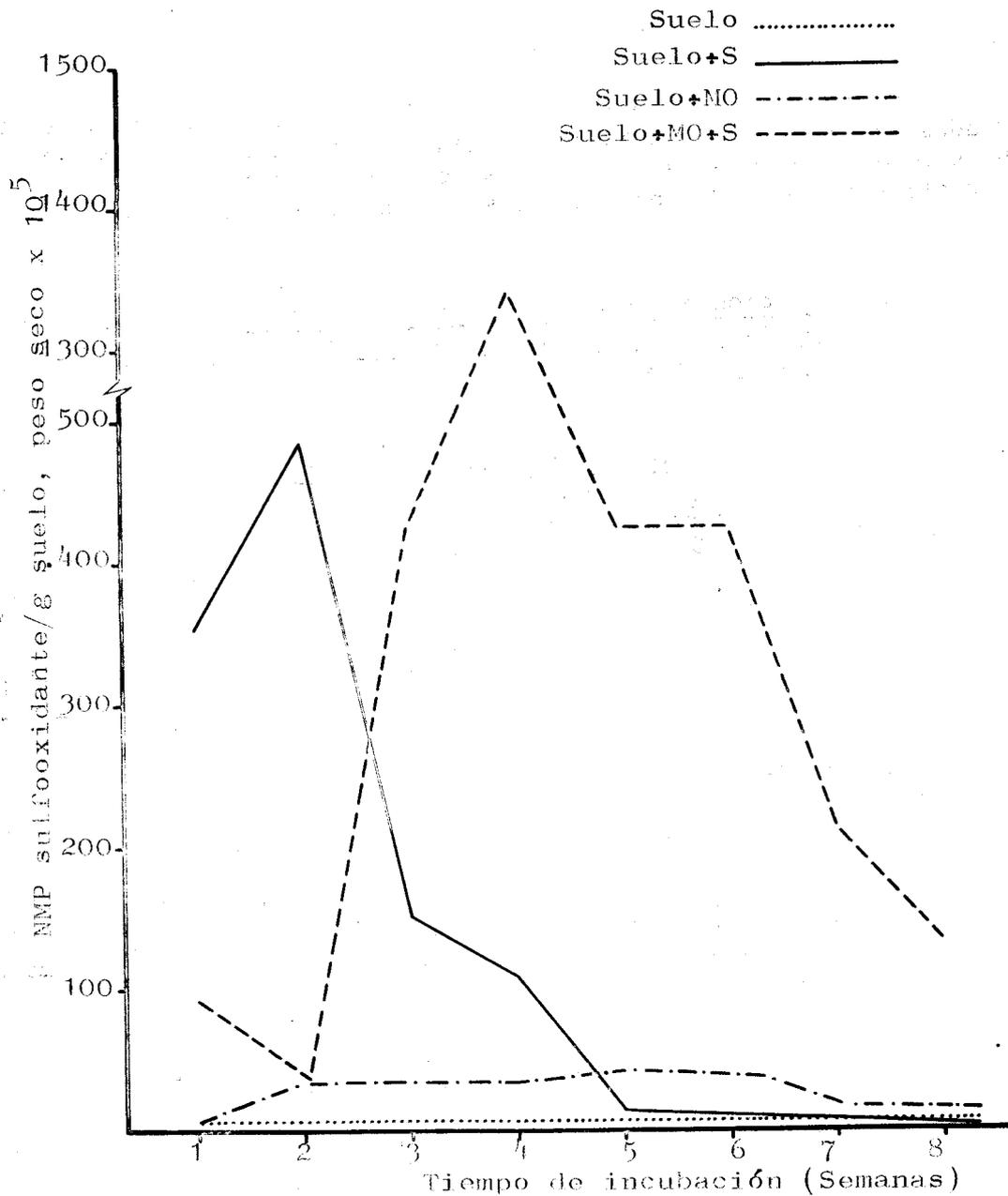


Fig. 9.- Evolución de la microflora oxidante del azufre en el suelo V incubado solo, con adición de azufre, de materia orgánica y de los dos conjuntamente, a lo largo del periodo de incubación (semanas).

La relación existente entre el número de sulfooxidantes encontrados en los suelos incubados con azufre y los presentes cuando no ha sido adicionado este elemento, se expone en la tabla XVII. Para mayor claridad han sido representados gráficamente como muestra la figura 10.

Tabla XVII. Relación existente entre el número de sulfooxidantes en suelos adicionados de azufre y sin él a lo largo del período de incubación.

Suelos	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	20	400	360	70	390	650	590	160
II	270	670	2340	900	730	700	530	350
III	30	190	300	20	7	6	30	80
IV	600	240	160	44	50	25	20	18
V	500	900	300	25	25	50	30	10

En la tabla XVIII se presenta la misma relación que en la tabla anterior, pero correspondiente a microorganismos sulfatorreductores.

Tabla XVIII. Relación existente entre el número de sulfatorreductores en suelos adicionados de azufre y sin él a lo largo del período de incubación.*

Suelos	Tiempo de incubación (semanas)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
I	-	-	-	1	20	20	2200	-
II	-	-	-	-	-	-	-	-
III	2	12	100	6	2	8	4	4
IV	38	30	240	20	10	6	10	20
V	-	-	-	-	-	-	-	-

* El signo - representa una relación con el denominador igual a 0.

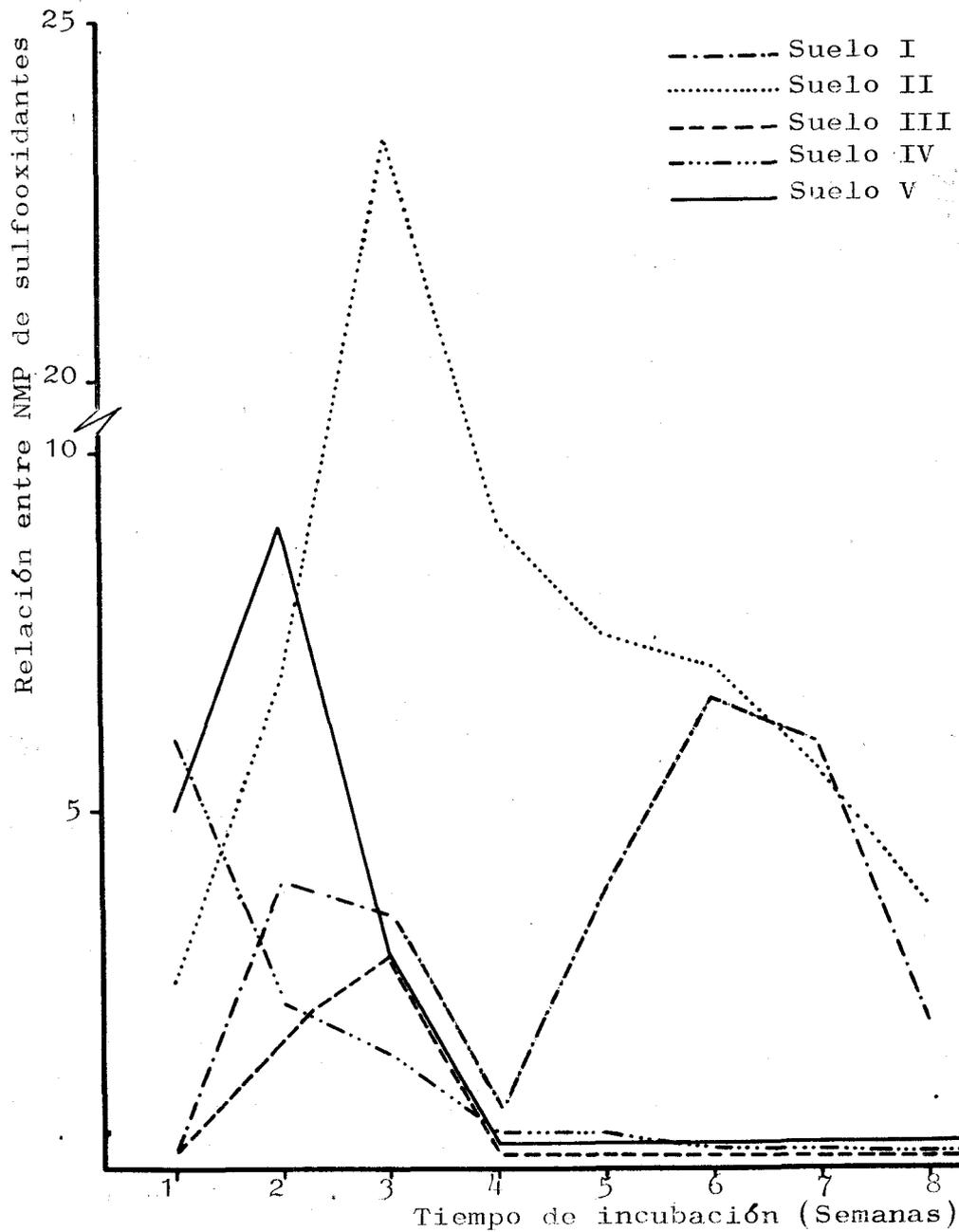


Fig. 10.- Relación del NMP sulfooxidantes en suelos incubados con y sin adición de azufre, a lo largo del periodo de incubación.

2. EXPERIENCIAS EN INVERNADERO.

2.1. Experiencia tipo A.

2.1.1. Determinaciones microbiológicas.

En las tablas XIX y XX, se exponen el NMP de microorganismos sulfooxidantes y sulfatorreductores, respectivamente, por gramo de suelo, peso seco, correspondientes a las muestras tomadas a lo largo del ciclo vegetativo de una de las especies vegetales ensayadas, judía. Estas tomas de muestras, coinciden, según quedó expuesto en Material y Métodos, en el momento anterior a realizar los tratamientos, excepto la última, final de la experiencia. Los tratamientos se indican con números arábigos, habiéndose reducido los correspondientes a "suelo cubierto" a una sola línea ya que en todo momento son coincidentes.

Tabla XIX. Evolución del NMP de microorganismos sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, a lo largo del ciclo vegetativo de la judía. La cifra real corresponde al valor indicado x 10⁴.

Tratamientos	Muestras (tomadas cada 15 días)					
	1	2	3	4	5	6
1 SNC	0.39	2.24	6.6	3.26	3.4	3.5
2 SNC	0.39	0.9	4.05	12.3	16.2	6.2
3 SNC	0.39	0.9	3.3	27.8	19.1	19.0
4 SNC	0.39	0.65	2.3	4.55	16.3	48.4
5 SNC	0.39	0.65	2.3	2.6	3.2	22.0
6-10 SC	0.39	0.65	2.3	2.6	2.0	1.2

Tabla XX. Evolución del NMP de microorganismos sulfatorreductores/gramo de suelo, peso seco, a lo largo del ciclo vegetativo de la judía.

Tratamientos	Muestras (tomadas cada 15 días)					
	1	2	3	4	5	6
1 SNC	50	50	104	103	280	80
2 SNC	50	59	290	280	290	55
3 SNC	50	70	133	155	280	47
4 SNC	50	70	102	245	520	26
5 SNC	50	70	102	260	50	27
6-10 SC	50	70	102	260	490	100

Para mayor claridad en la valoración de estos resultados se ha realizado la representación gráfica de las actividades sulfooxidante y sulfatorreductora a lo largo del ciclo vegetativo de la judía (figuras 11 y 12 respectivamente).

Actividad amonificante.

La actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de las especies vegetales ensayadas en este tipo de experiencia quedan reflejadas en las tablas XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV y XXVI, que muestran la actividad amonificante según el criterio de la llamada técnica simplificada. Los resultados indican la dilución más alta en la que ha desaparecido el sustrato, tirosina, al 3º, 5º, 10º y 21º día, después de la siembra. Las tomas de muestras coinciden con el momento de realizar los tratamientos.

Tabla XXI. Actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de la judía en el suelo en el que se ha aplicado el tratamiento 1, correspondiente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3º	5º	10º	21º
1º	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
2º	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
3º	10 ⁻²	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
4º	10 ⁻²	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
5º	10 ⁻¹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
6º	10 ⁻¹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸

Tabla XXII. Actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de la judía, en el suelo en el que se aplicó el tratamiento 2, correspondiente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3º	5º	10º	21º
1º	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
2º	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
3º	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
4º	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
5º	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
6º	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸

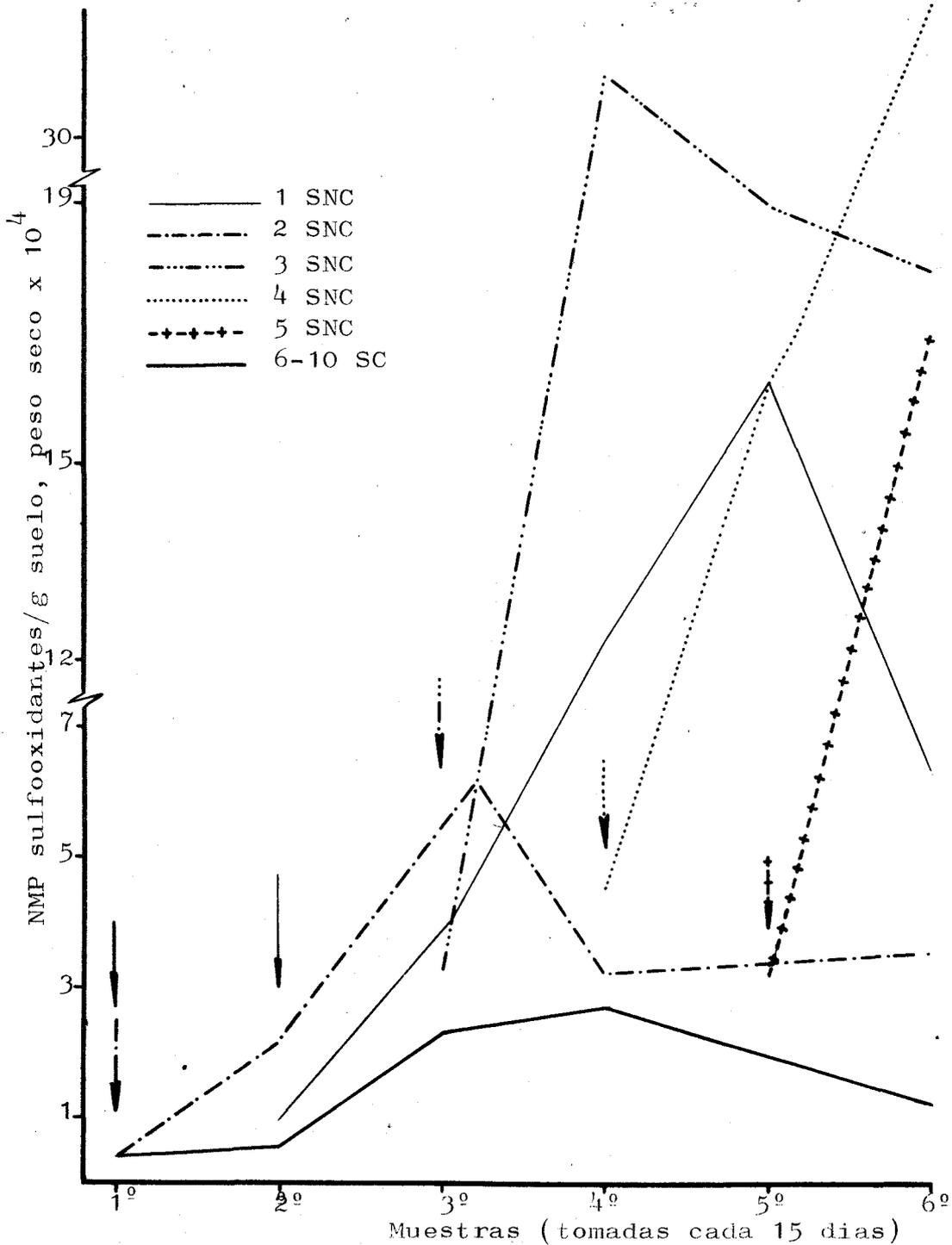


Fig. 11.- Evolución de la microflora sulfooxidante en experiencias realizadas con pulverizaciones de azufre simples, a lo largo del ciclo vegetativo de judía.

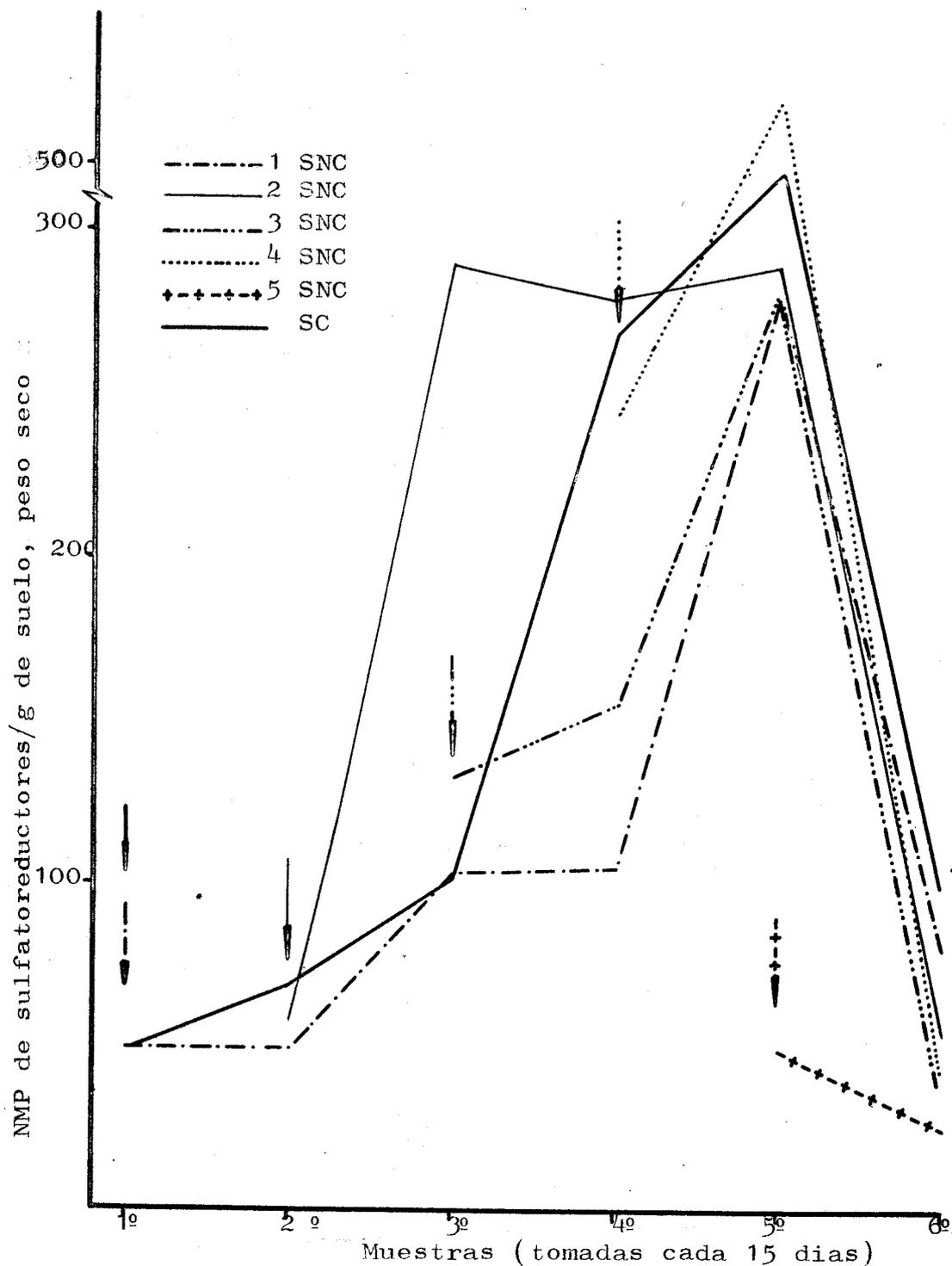


Fig. 12.- Evolución de la microflora sulfatorreductora en experiencias realizadas con pulverizaciones de azufre simples a lo largo del ciclo vegetativo de la judía.

Tabla XXIII. Actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de la judía en el suelo en el que se ha aplicado el tratamiento 3, correspondiente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3 ^º	5 ^º	10 ^º	21 ^º
1 ^º	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
2 ^º	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
3 ^º	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
4 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
5 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
6 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸

Tabla XXIV. Actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de la judía en el suelo en el que se ha aplicado el tratamiento 4, correspondiente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3 ^º	5 ^º	10 ^º	21 ^º
1 ^º	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
2 ^º	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
3 ^º	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
4 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
5 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸
6 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁸

Tabla XXV. Actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de la judía en el suelo en el que ha sido aplicado el tratamiento 5, correspondiente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestras	Tiempo de incubación (días)			
	3 ^º	5 ^º	10 ^º	21 ^º
1 ^º	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
2 ^º	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
3 ^º	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
4 ^º	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
5 ^º	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸
6 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁻⁸

Tabla XXVI. Actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de la judía en el suelo que ha estado cubierto (SC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3º	5º	10º	21º
1º	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
2º	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
3º	10 ⁻¹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
4º	10 ⁻¹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
5º	10 ⁻¹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
6º	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸

Tomando como base la dilución de suelo más alta en la que desaparece la tirosina el décimo día, se ha representado en la Tabla XXVII, todos los tratamientos en conjunto para poder fácilmente establecer, de este modo, la comparación entre ellos.

Tabla XXVII. Actividad amonificante de todos los tratamientos en conjunto, tomando como base la dilución que desaparece el décimo día después de la siembra.

Tomas de muestra	Tratamientos					
	1SNC	2SNC	3SNC	4SNC	5SNC	6-10SC
1º	10 ⁻⁸					
2º	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸				
3º	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
4º	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
5º	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶
6º	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻⁶

En las Tablas XXVIII y XXIX se expresan respectivamente, el NMP de microorganismos nitrificantes nitrosos y nítricos, por gramo de suelo, peso seco, correspondientes a las muestras tomadas a lo largo del ciclo vegetativo de una de las especies vegetales ensayadas, judía. Estas tomas de muestras coinciden, según quedó expuesto en Material y Métodos, con el comento de realizar los tratamientos, excepto la última, final de la experiencia. Los tratamientos se indican con los números arábigos habiéndose reducido los correspondientes a "suelo cubierto" a una sola línea ya que son en todo momento coincidentes.

Tabla XXVIII. Evolución del NMP de microorganismos nitrificantes nitrosos/gramo de suelo, peso seco, a lo largo del ciclo vegetativo de la judía. La cifra real corresponde al valor indicado $\times 10^2$.

Tratamientos	Muestras (tomadas cada 15 días)					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º
1 SNC	3.3	5.0	16.0	32.0	68.0	153.0
2 SNC	3.3	2.9	19.0	90.0	125.0	158.0
3 SNC	3.3	3.8	2.7	19.0	146.0	160.0
4 SNC	3.3	3.8	3.8	2.8	28.0	37.0
5 SNC	3.3	3.8	3.8	3.8	4.4	21.0
6-10 SC	3.3	3.8	3.8	3.8	38.0	12.4

Tabla XXIX. Evolución del NMP de microorganismos nitrificantes nítricos/gramo de suelo, peso seco, a lo largo del ciclo vegetativo de la judía. La cifra real corresponde al valor indicado $\times 10^2$.

Tratamientos	Muestras (tomadas cada 15 días)					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º
1 SNC	169	136	391	176	145	93
2 SNC	169	58	230	28	20	22
3 SNC	169	92	57	152	94	11
4 SNC	169	92	76	45	90	55
5 SNC	169	92	76	37	23	38
6-10 SC	169	92	76	37	18	14

La evolución del NMP de microorganismos nitrificantes nitrosos y nítricos ha sido expuesta en las tablas anteriores, no obstante, se ha representado también gráficamente (figuras 13 y 14 respectivamente) para una mejor apreciación de los resultados.

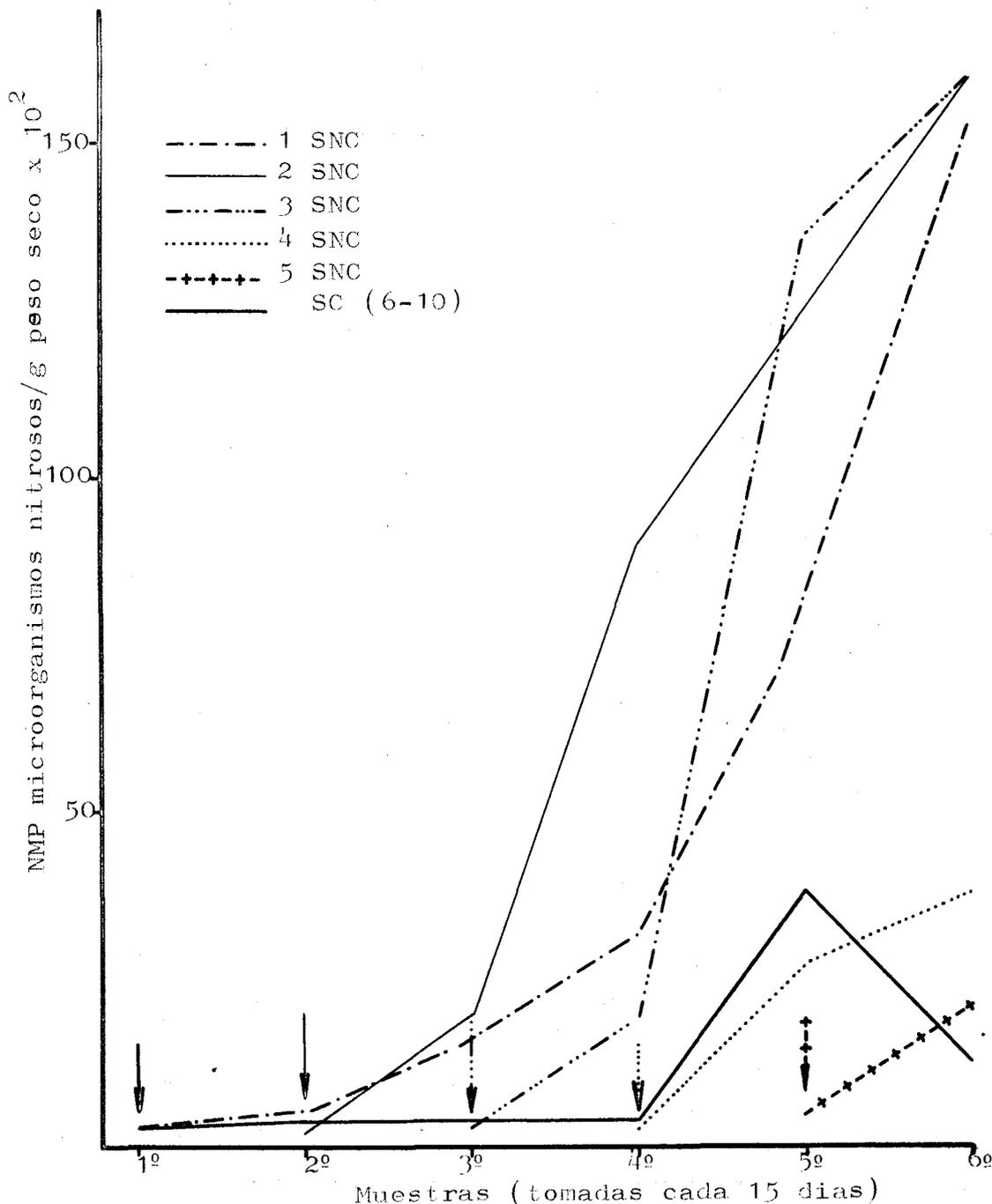


Fig. 13.- Evolución de los microorganismos nitrificantes nitrosos, en experiencias realizadas con pulverizaciones de azufre simples, a lo largo del ciclo vegetativo de la judía.

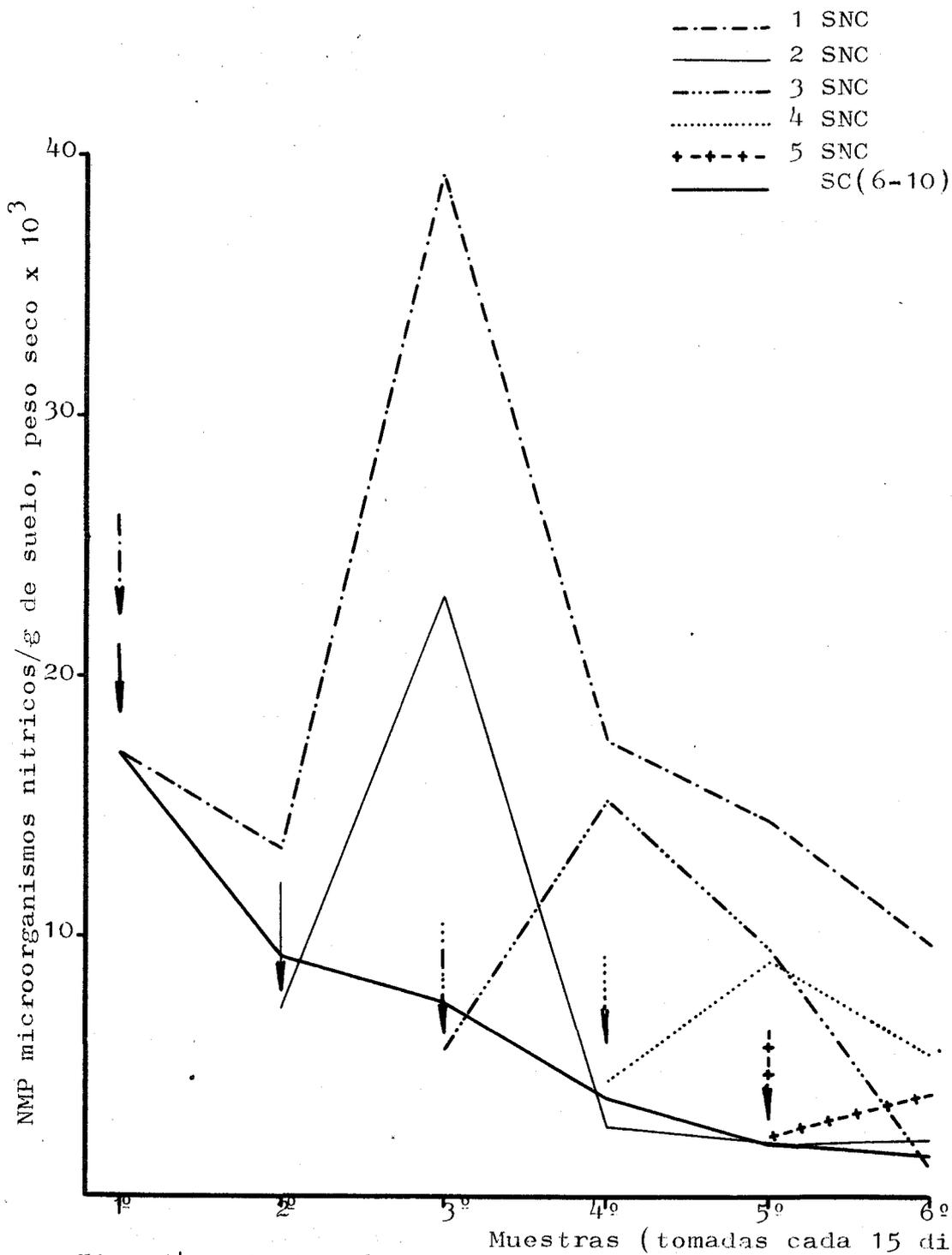


Fig. 14.- Evolución de microorganismos nitrificantes nitricos en experiencias realizadas con pulverizaciones de azufre simples, a lo largo del ciclo vegetativo de la judia.

2.1.2. Determinaciones fisiológicas.

En las tablas XXX y XXXI se exponen los resultados obtenidos para peso fresco de las plantas de judías, parte aérea, pertenecientes al tipo de experiencia A, tratamientos no acumulativos y al ensayo de suelo no cubierto, la primera y al suelo cubierto la segunda.

Las tablas XXXII y XXXIII muestran la evolución de la floración y fructificación, respectivamente, en este tipo de experiencias.

En las tablas referentes a brote fresco se han incluido los cálculos estadísticos correspondientes y se ha considerado el dato obtenido para el tratamiento 1 como 100 para apreciar la posible variación porcentual existente con otros tratamientos.

Tabla XXX. Crecimiento experimentado por el brote durante el periodo de cultivo. Determinación de peso fresco. Medida de cinco repeticiones, expresadas en gramos. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRept.
	1	2	3	4	5	
I	3.549	4.099	3.724	4.362	3.735	19'469
II	3.705	3.956	4.555	3.008	3.972	19'196
III	4.340	3.632	3.148	2.998	3.728	17'846
IV	4.565	4.071	3.778	3.486	4.158	20'058
V	3.561	3.962	4.610	3.947	4.632	20'712
Total	19'720	19'720	19'815	17'801	20'225	97'281
Media	4'930	4'930	4'953	4'450	5'056	
%*	100	100	101	90	103	

* Tomando el tratamiento 1 como 100.

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F. Calcul.	Real	Nivel de probabilidad
Tratamientos	4	0.7197	0.1799	0.79	-	-
Repeticiones	4	0.9199	0.2299	1.01	-	-
Error	16	3.6264	0.2264	-	-	-
Total	24					

Tabla XXXI. Crecimiento experimentado por el brote durante el periodo de cultivo. Determinación de peso fresco. Medida de cinco repeticiones, expresadas en gramos. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					Σ Rept.
	6	7	8	9	10	
I	3.894	3.190	3.952	3.386	5.180	19.602
II	3.772	4.155	2.882	3.866	4.457	19.132
III	3.894	3.796	4.469	3.330	3.567	19.056
IV	3.697	3.710	4.201	4.111	3.541	19.260
V	4.528	4.013	3.357	3.268	3.085	18.251
Total	19.785	18.864	18.861	17.961	19.830	95.301
Media	4.946	4.716	4.715	4.490	4.957	
%*	100	95	95	91	100	

* Tomando el tratamiento 1 como 100

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuente de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Nivel de probabilidad</u>
Tratamientos	4	0.4808	0.1202	0.33	-	-
Repeticiones	4	0.1987	0.0496	0.13	-	-
Error	16					
Total	24					

Tabla XXXII. Evolución de la floración. Número de flores totales en ju día.

Días	Tratamientos									
	Suelo no cubierto (SNC)					Suelo cubierto (SC)				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	-	4	5	3	-	-	5	3	1	-
4	2	10	7	8	4	1	10	6	3	3
6	10	17	13	10	10	6	17	10	8	8
8	17	28	20	20	16	12	31	16	15	10
10	20	36	26	23	19	16	38	24	17	18
12	24	42	35	28	27	21	45	32	28	20
14	30	48	44	30	32	31	49	39	37	32
16	32	49	46			31	53	51	38	
Total	32	49	46	30	32	31	53	51	38	32
%	100	153	144	94	100	100	170	165	120	100

Los tratamientos 4 y 9 se efectuaron según el planteamiento previsto, coincidiendo en plena evolución de la floración.

Tabla XXXIII. Evolución de la fructificación. Número de frutos totales en judía.

Días	Tratamientos									
	Suelo no cubierto (SNC)					Suelo cubierto (SC)				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	-	3	1	-	-	-	2	3	1	-
4	6	16	13	3	4	4	10	12	12	5
6	14	22	19	15	16	10	20	19	19	10
8	18	25	22	19	20	20	29	22	27	12
10	19	27	24	20	22	20	31	24	28	18
12	20	30	26	24	24	26	39	26	30	27
14	22	31	27	26	28	28	41	29	31	29
16	23	34	29	29	30	30	47	30	31	31
18	25	37	37	38	31	50	44	34	34	35
20	28	39	39	40	33	35	56	47	36	36
22	38	42	40	42	36	37	57	48	39	39
24	39	43	45	44	36	40	57	49	41	42
Total	39	43	45	44	36	40	57	49	41	42
%	100	100	115	115	93	100	140	125	102	104

Los tratamientos 5 y 10 se efectuaron según el planteamiento previsto, coincidiendo en plena evolución de la fructificación.

2.2. Experiencias Tipo B.

2.2.1. Determinaciones microbiológicas.

De todas las experiencias realizadas, se han tomado los resultados de alguna, pues aunque en valores absolutos muestran variaciones sensibles, en todos los casos se presentan similares tendencias y comportamiento.

En las tablas XXXIV y XXXV se exponen, respectivamente, el NMP de microorganismos sulfooxidantes y sulfatorreductores, por gramo de suelo, peso seco, correspondientes a las muestras tomadas a lo largo del ciclo vegetativo de una de las especies ensayadas, rábano. Estas tomas de muestra coinciden, según quedó expuesto en Material y Métodos, con el momento de realizar los tratamientos, excepto la última, final de la experiencia. Los tratamientos se indican con números arábigos habiéndose reducido los correspondientes a "suelo cubierto" a una sola línea ya que son en todo momento coincidentes.

Tabla XXXIV. Evolución del NMP de microorganismos sulfooxidantes/gramo de suelo, peso seco, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano. La cifra real corresponde al valor indicado $\times 10^4$.

Tratamientos	Muestras (tomadas cada 15 días)					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º
1 SNC	45	41	40	46	32	11
2 SNC	45	42	44	170	270	440
3 SNC	45	42	42	193	320	540
4 SNC	45	42	42	150	210	450
5 SNC	45	42	42	150	200	800
6-10 SC	45	45	3.6	0.9	0.3	0.1

Tabla XXXV. Evolución del NMP de microorganismos sulfatorreductores/ gramo de suelo, peso seco, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano.

Tratamientos	Muestras (tomadas cada 15 días)					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º
1 SNC	39	88	133	150	300	15
2 SNC	39	48	380	546	220	120
3 SNC	39	48	393	600	220	117
4 SNC	39	48	393	530	370	195
5 SNC	39	48	393	530	310	195
6-10 SC	39	132	242	112	52	19

Para mejor observar la evolución de la microflora oxidante y reductora del azufre mostrada en las tablas anteriores, se han representado gráficamente los valores obtenidos en las figuras 15 y 16 respectivamente.

Actividad amonificante.

La actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de una de las especies ensayadas, judía, queda reflejada gráficamente en las figuras 17, 18, 19, 20, 21, y 22. En cada una de ellas, se representa la evolución de la actividad amonificante para cada tratamiento, seguida por las muestras tomadas antes de realizar la correspondiente pulverización con azufre.

En el trazado de las figuras, se ha tenido en cuenta, como se explicó anteriormente, la desaparición de la tirosina.

Además de las figuras anteriores, se ha creído oportuno adjuntar las tablas XXXVI, XXXVII, XXXVIII, XXXIX, XL y XLI que muestran la actividad amonificante según el criterio de la llamada técnica simplificada.

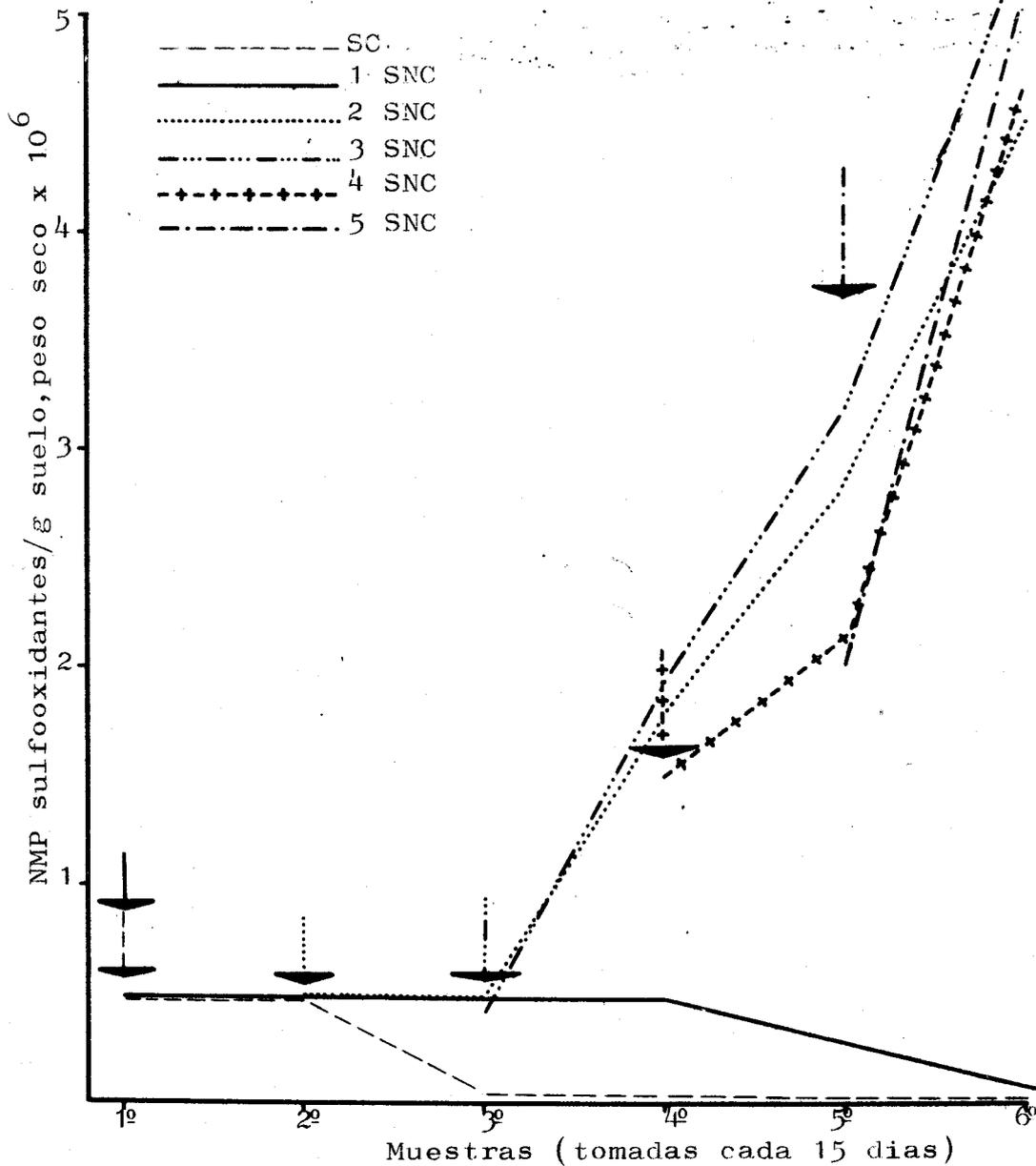


Fig.15.- Evolución de la microflora sulfooxidante en experiencias realizadas con pulverizaciones de azufre acumuladas a lo largo del ciclo vegetativo del rábano.

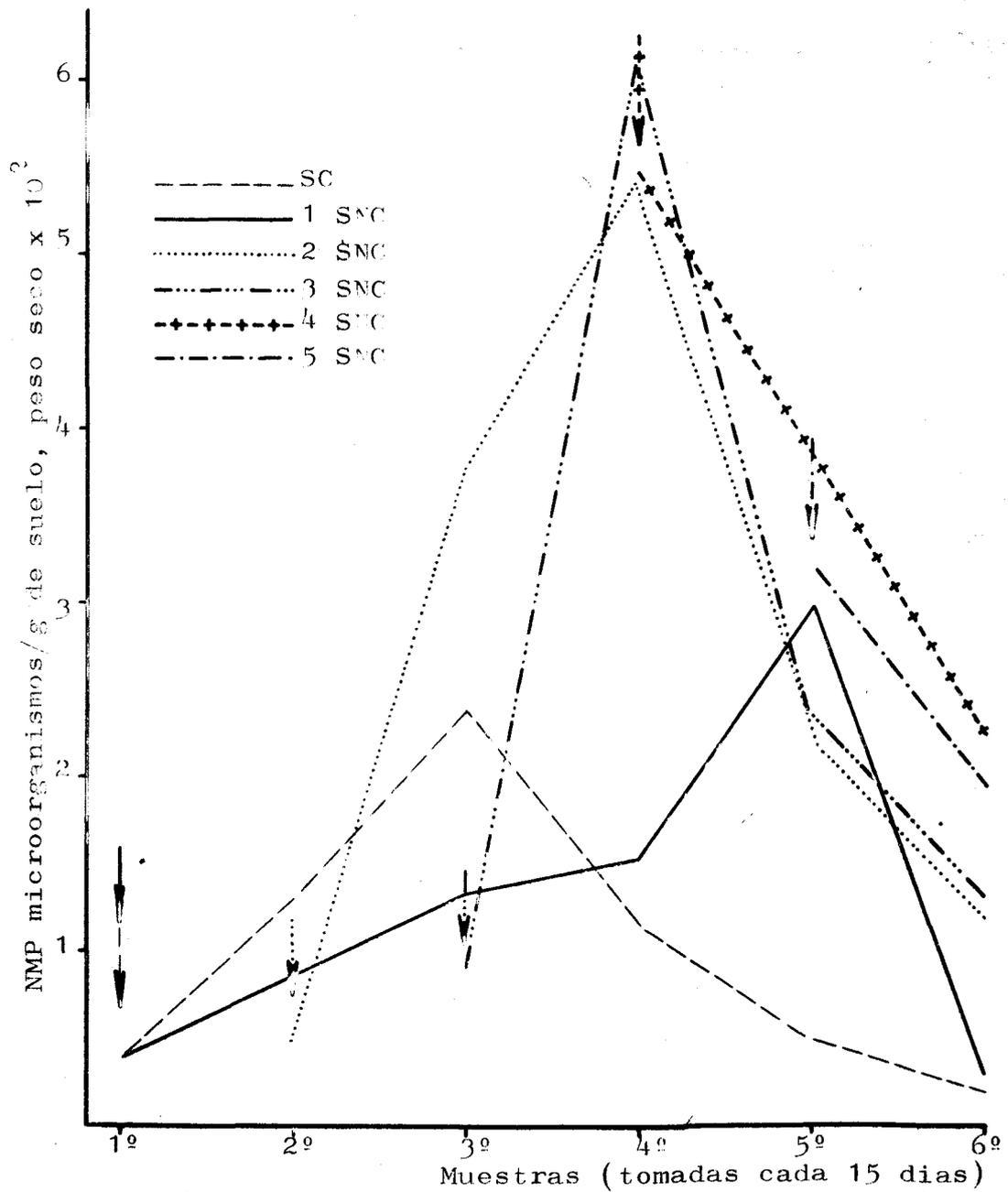


Fig. 16.- Evolución de la microflora sulfatorreductora en experiencias realizadas con pulverizaciones de azufre acumuladas, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano.

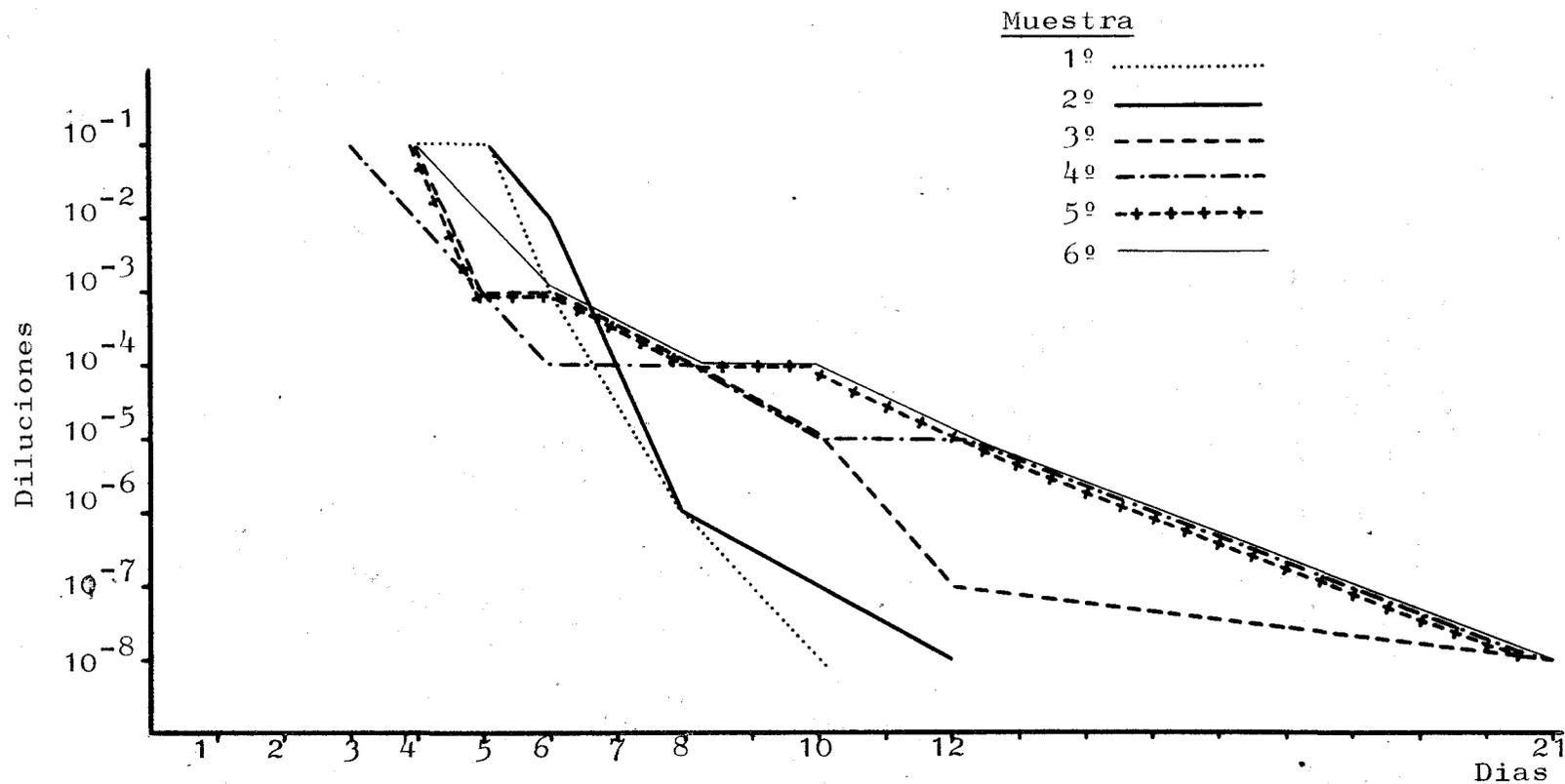


Fig. 17.- Evolución de la actividad amonificante del suelo correspondiente al tratamiento 2, no cubierto, en las distintas tomas de muestra realizadas. La gráfica indica la desaparición de la tirosina, en función del tiempo.

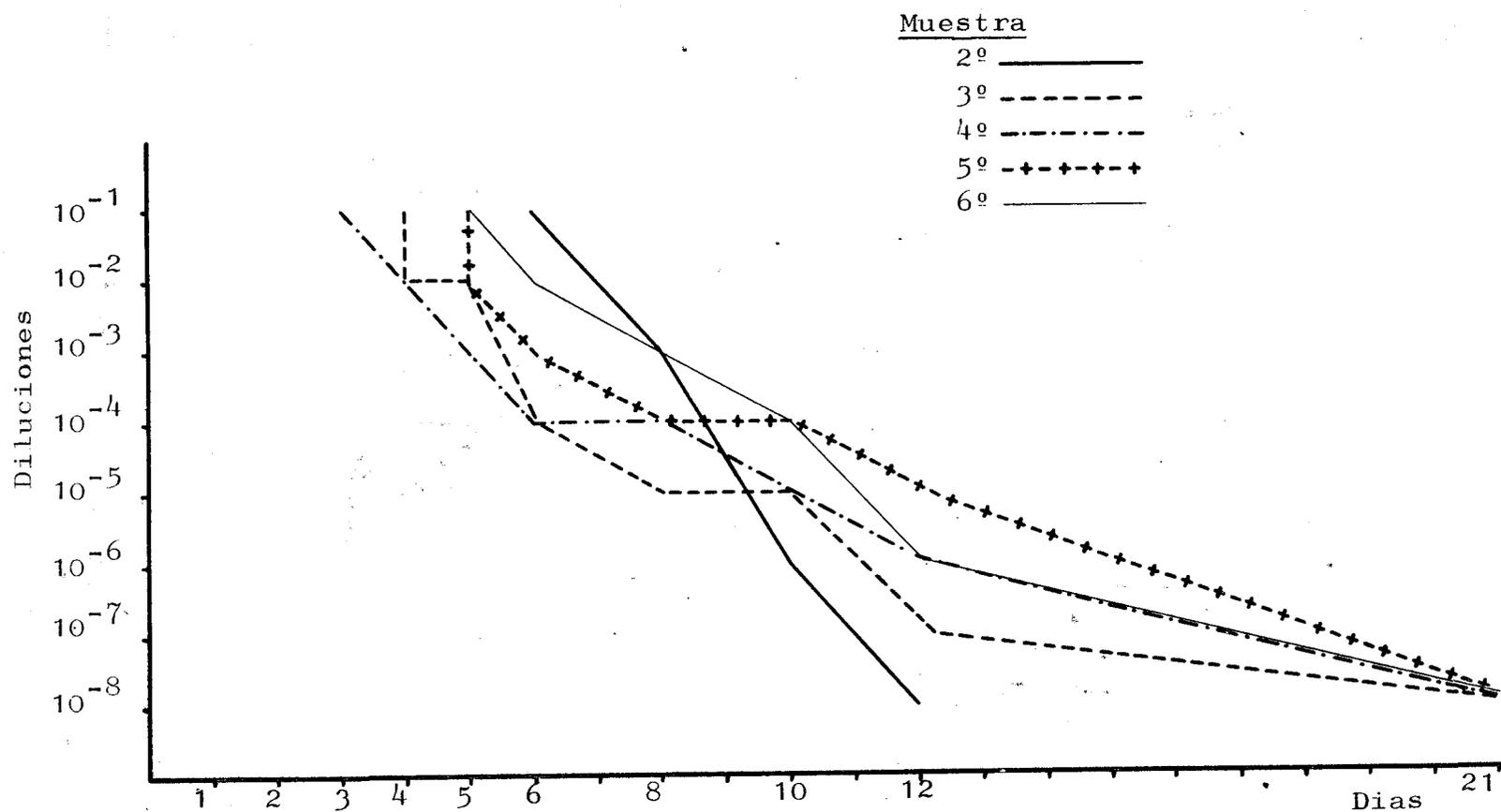


Fig. 18.- Evolución de la actividad amonificante del suelo, correspondiente al tratamiento 2, no cubierto, en las distintas tomas de muestra realizadas. La gráfica indica la desaparición de la tirosina en función del tiempo.

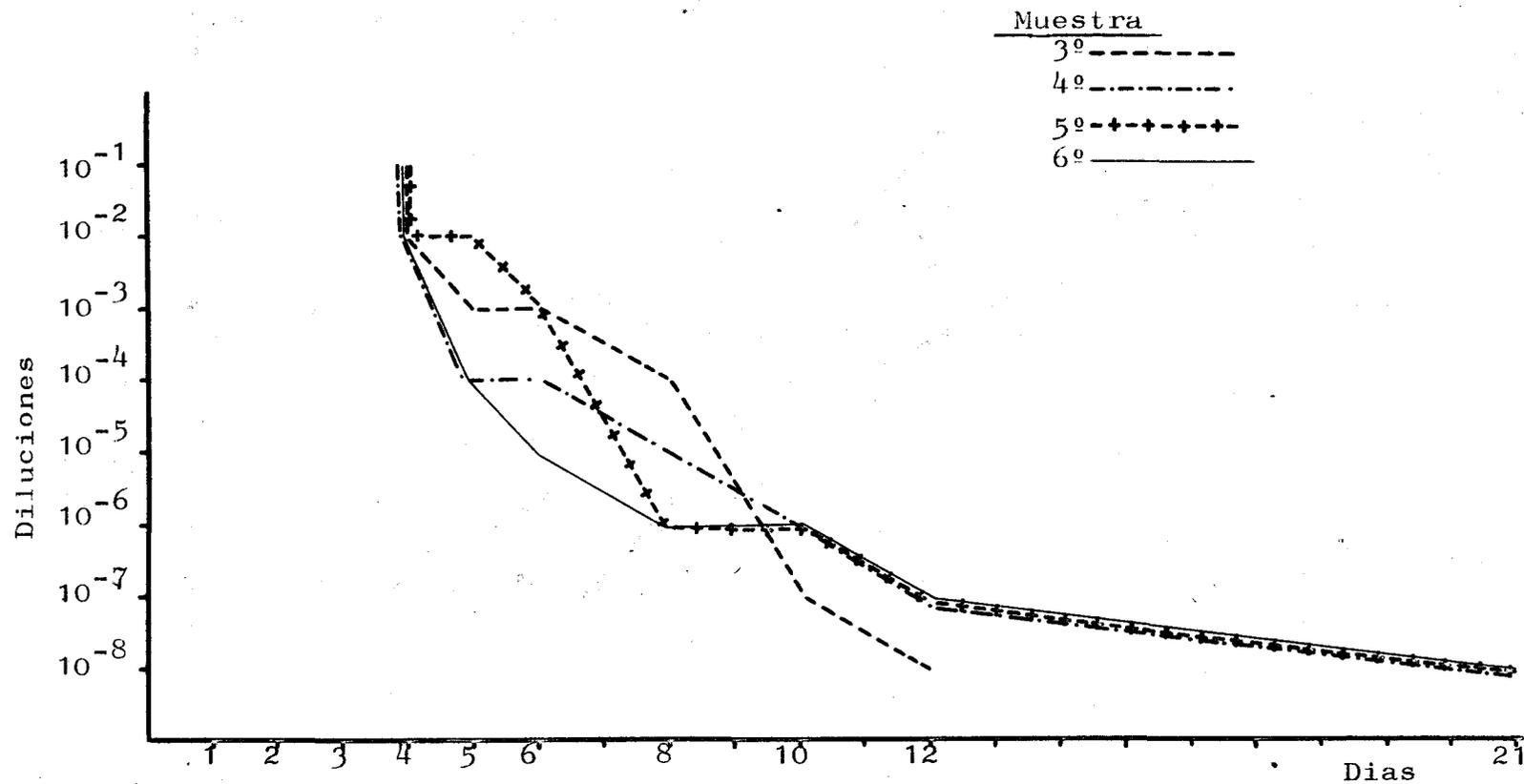


Fig. 19.- Evolución de la actividad amonificante del suelo, correspondiente al tratamiento 3, no cubierto, en las distintas tomas de muestra realizadas. La gráfica indica la desaparición de la tirosina en función del tiempo.

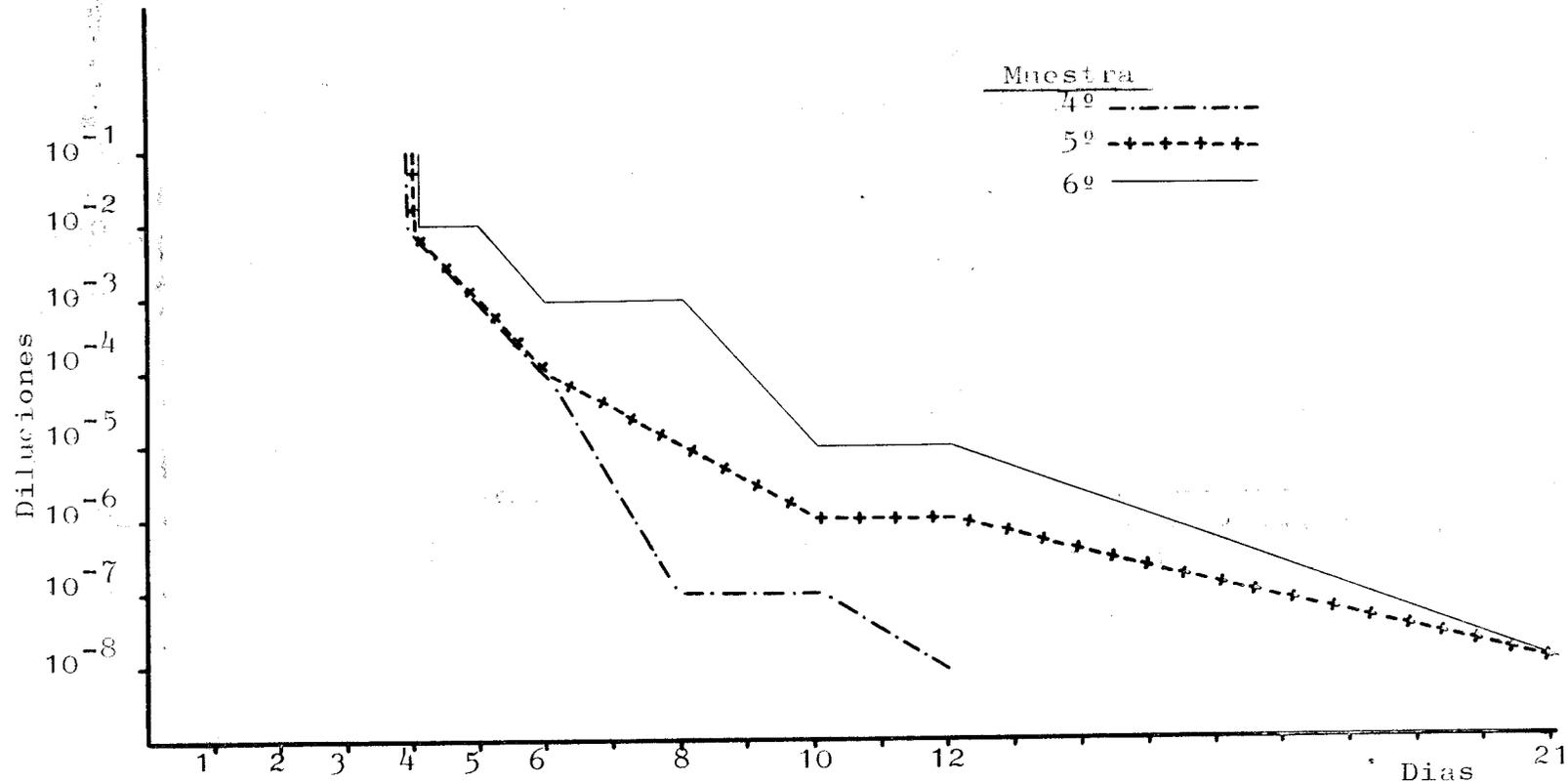


Fig. 20.- Evolución de la actividad amonificante del suelo, correspondiente al tratamiento 4, no cubierto, en las distintas tomas de muestra realizadas. La gráfica indica la desaparición de la tirosona en función del tiempo.

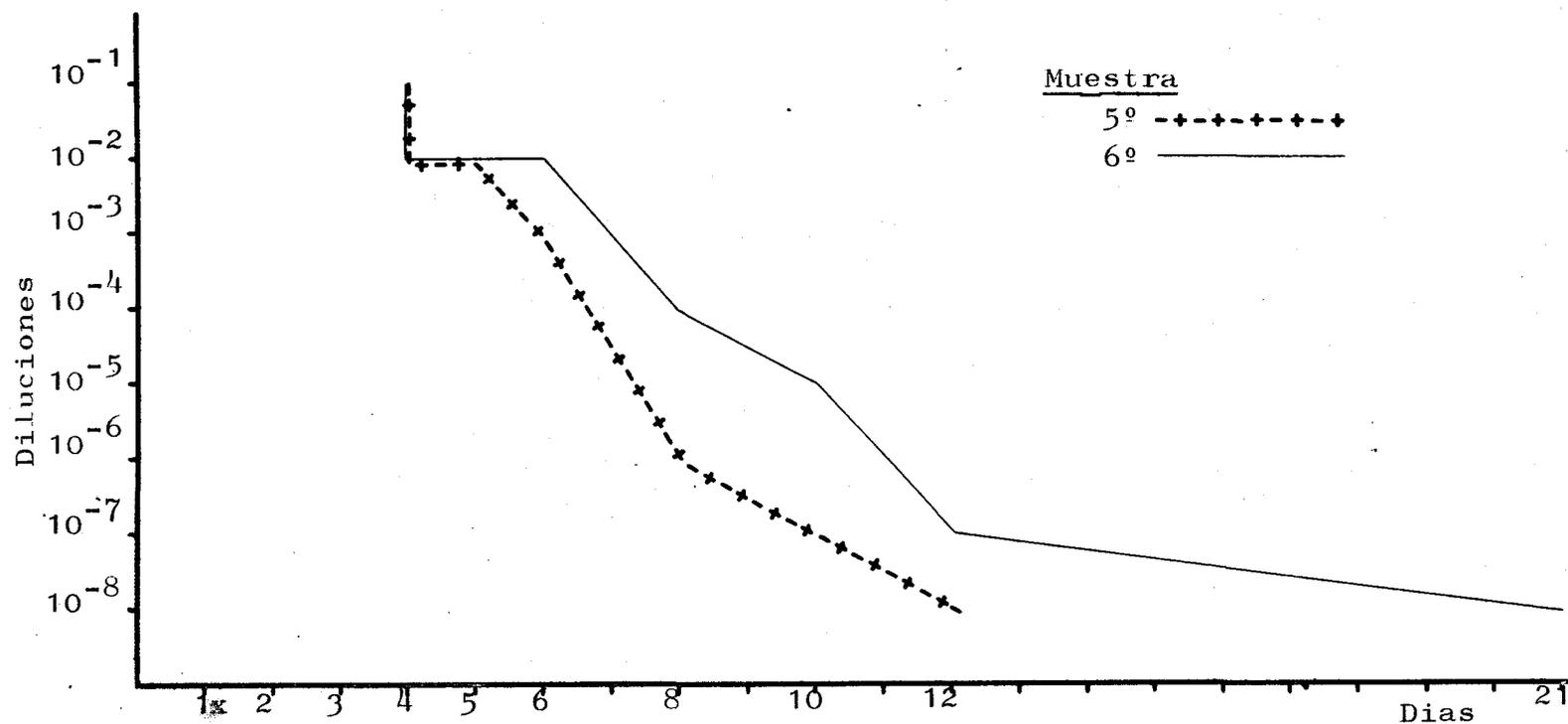


Fig. 21.- Evolución de la actividad amonificante del suelo, correspondiente al tratamiento 5, no cubierto, en las distintas tomas de muestra realizadas. La grafica indica la desaparición de la tirosina en función del tiempo.

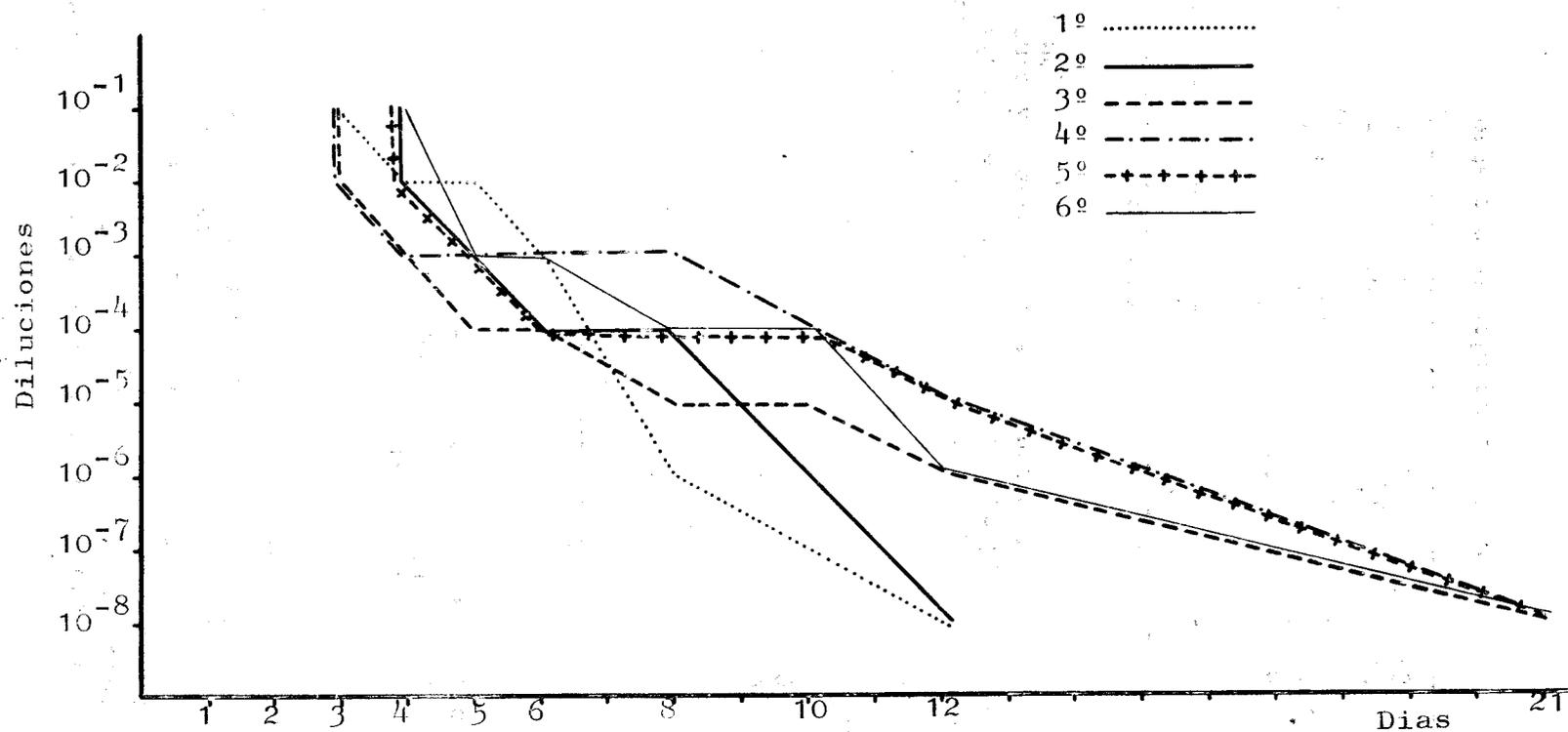


Fig. 22.- Evolución de la actividad amonificante del suelo, cubierto, en las distintas tomas de muestra realizadas. La gráfica indica la desaparición de la tirosina en función del tiempo.

La actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo de las especies vegetales ensayadas en este tipo de experiencias queda reflejada en las tablas XXXVI, XXXVII, XXXVIII, XXXIX, XL y XLI, que muestran la actividad amonificante según el criterio de la llamada técnica simplificada. Los resultados indican la dilución más alta en la que ha desaparecido el substrato, tirosina, al 3º, 5º, 10º y 21º día, después de la siembra. Las tomas de muestras coinciden con el momento de realizar los tratamientos.

Tabla XXXVI. Actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo - del rábano en el suelo, en el que ha sido aplicado el tratamiento 1, perteneciente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3º	5º	10º	21º
1º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
2º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
3º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
4º	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
5º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸
6º	-	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸

Signo - corresponde a presencia de tirosina.

Tabla XXXVII. Actividad amonificante, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano en el suelo, en el que se ha aplicado el tratamiento 2, perteneciente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Toma de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3º	5º	10º	21º
1º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸
2º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
3º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
4º	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
5º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸
6º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸

Signo - corresponde a presencia de tirosina.

Tabla XXXVIII. Actividad amonificante, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano, en el suelo en el que se ha aplicado el tratamiento 3 perteneciente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3 ^º	5 ^º	10 ^º	21 ^º
1 ^º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁸	
2 ^º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
3 ^º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
4 ^º	-	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
5 ^º	-	10 ⁻²	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
6 ^º	-	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸

Signo - corresponde a presencia de tirosina.

Tabla XXXIX. Actividad amonificante, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano, en el suelo en el que se ha aplicado el tratamiento 4 perteneciente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3 ^º	5 ^º	10 ^º	21 ^º
1 ^º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁸	
2 ^º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
3 ^º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
4 ^º	-	10 ⁻²	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
5 ^º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
6 ^º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸

Signo - corresponde a la presencia de tirosina.

Tabla XL. Actividad amonificante, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano, en el suelo en el que se ha aplicado el tratamiento 5 perteneciente al ensayo de suelo no cubierto (SNC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3 ^º	5 ^º	10 ^º	21 ^º
1 ^º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁸	
2 ^º	-	10 ⁻¹	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
3 ^º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
4 ^º	-	10 ⁻²	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
5 ^º	-	10 ⁻²	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
6 ^º	-	10 ⁻²	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸

Signo - corresponde a la presencia de tirosina.

Tabla XLI. Actividad amonificante a lo largo del ciclo vegetativo del rábano en el suelo que ha estado cubierto (SC).

Tomas de muestra	Tiempo de incubación (días)			
	3 ^º	5 ^º	10 ^º	21 ^º
1 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
2 ^º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁶	10 ⁻⁸
3 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁸
4 ^º	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸
5 ^º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸
6 ^º	-	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁸

Signo - corresponde a presencia de tirosina.

Tomando como base la dilución de suelo más alta en la que desaparece la tirosina al décimo día, se ha representado gráficamente todos los tratamientos en conjunto para poder establecer más fácilmente la comparación entre ellos, observándose en la figura 23.

Actividad nitrificante.

En las tablas XLII y XLIII se expresan el NMP de microorganismos nitrificantes, nitrosos y nítricos, respectivamente, por gramo de suelo, peso seco, correspondiente a muestras tomadas a lo largo del ciclo vegetativo de una de las especies vegetales ensayadas, rábano. Estas tomas de muestras, coinciden según lo expuesto en el capítulo de Material y Métodos, con el momento de realizar los tratamientos, - excepto la última, final de la experiencia. Los tratamientos se indican con número arábigos, habiéndose reducido los correspondientes a "suelo cubierto" a una sola línea ya que en todo momento fueron coincidentes.

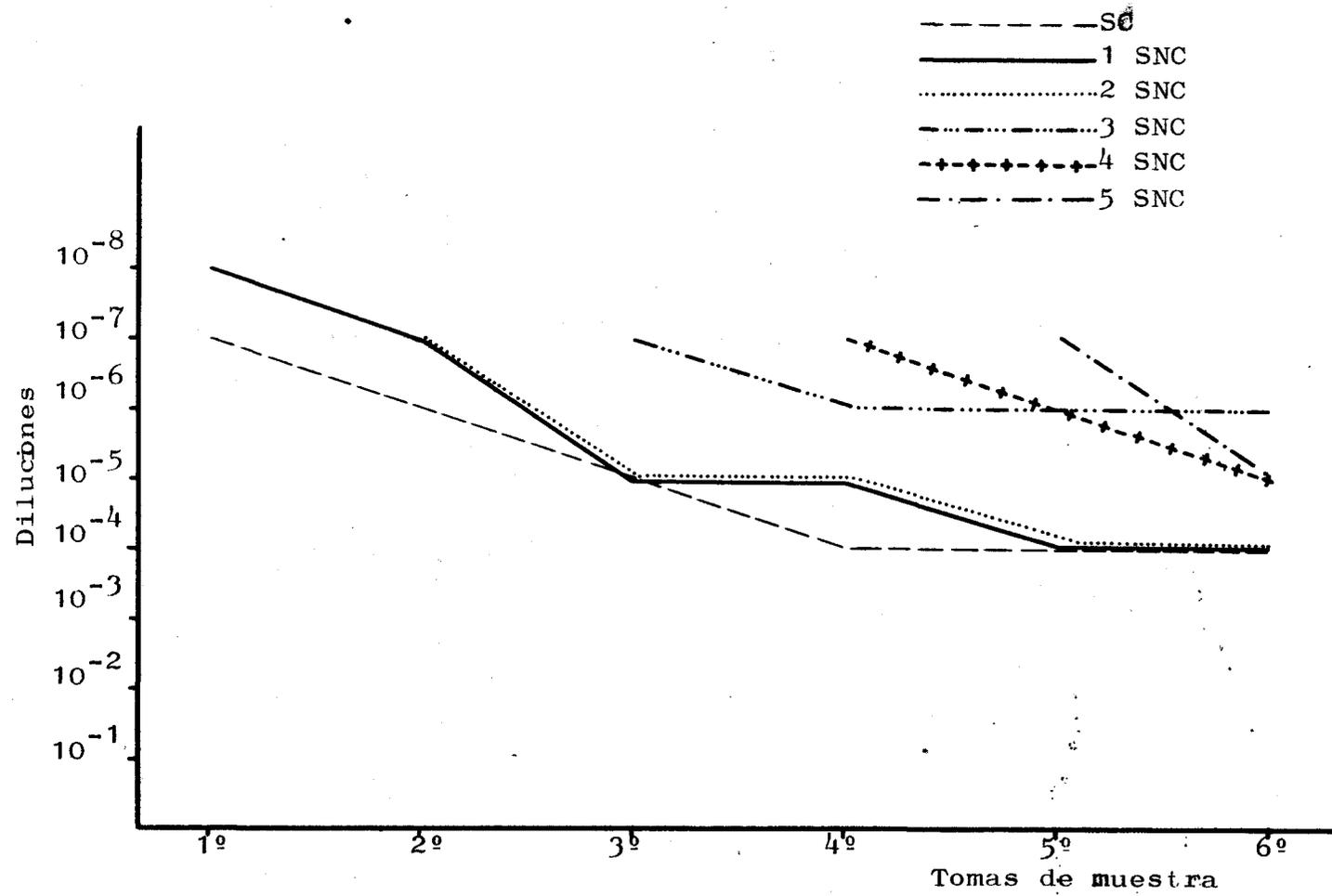


Fig. 23.- Variación de la microflora amonificante al 10º día.

Tabla XLII. Evolución de los microorganismos nitrificantes nitrosos/ gramo de suelo, peso seco, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano. El valor real corresponde al indicado $\times 10^2$.

Tratamientos	Muestras (tomadas cada 15 días)					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º
1 SNC	4,5	8,2	31	29	32	48
2 SNC	4,5	6,9	21,5	30	55	80
3 SNC	4,5	6,9	19,6	40	87	160
4 SNC	4,5	6,9	19,6	29,5	63,2	78
5 SNC	4,5	6,9	19,6	29,5	63,6	95
6-10 SC	4,5	5,9	9,9	20	16	12

Tabla XLIII. Evolución de la flora bacteriana nitrificante nítrica/gramo de suelo, peso seco, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano. El valor real corresponde al indicado $\times 10^2$.

Tratamientos	Muestras (tomadas cada 15 días)					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º
1 SNC	2,6	4,7	5,0	104	118	41
2 SNC	2,6	4,3	38	42	121	218
3 SNC	2,6	4,3	42	47	104	299
4 SNC	2,6	4,3	42	53	184	455
5 SNC	2,6	4,3	42	53	180	317
6-10 SC	2,6	12,4	13,3	15,4	40,6	38

Para mayor claridad en la valoración de estos resultados se ha realizado la representación gráfica de las actividades nitrificantes, nítricas y nitrosas, a lo largo del ciclo vegetativo del rábano, siendo observadas en las figuras 24 y 25, respectivamente.

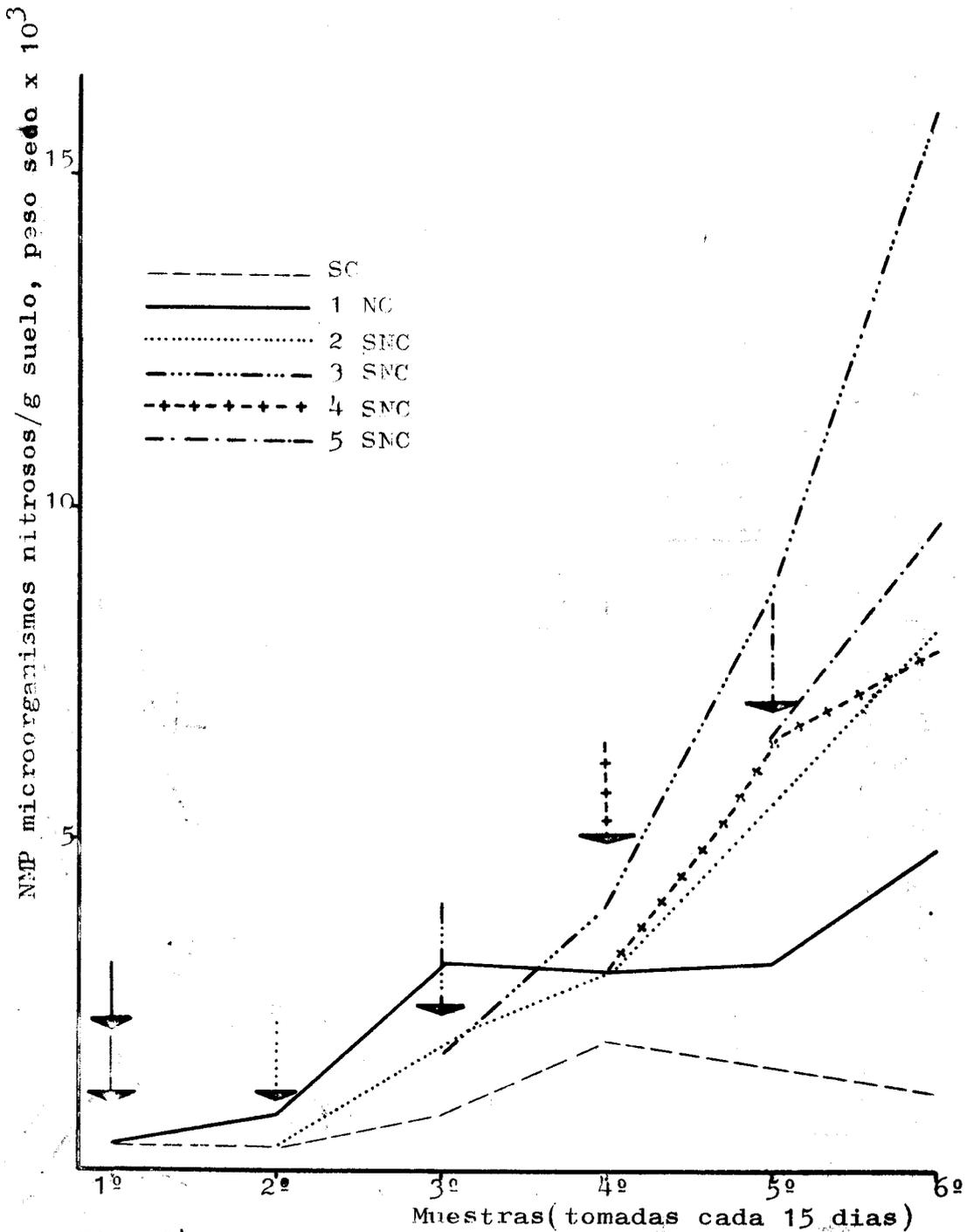


Fig. 24.- Evolución de microorganismos nitrosos en experiencias realizadas con pulverizaciones de azufre acumuladas a lo largo del ciclo vegetativo del rábano.

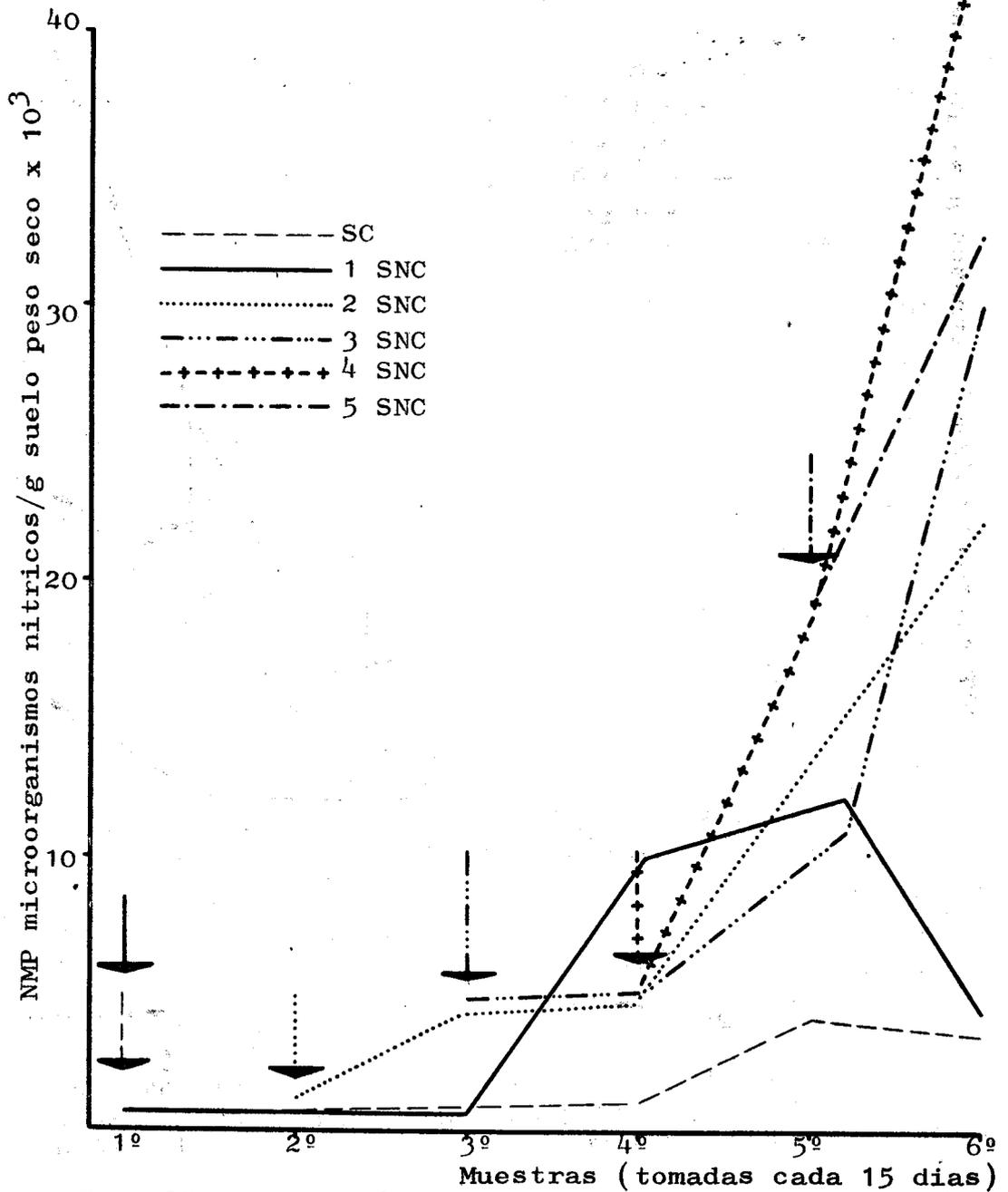


Fig. 25.- Evolución de microorganismos nitricos en experiencias realizadas con pulverizaciones de azufre acumuladas a lo largo del ciclo vegetativo del rábano.

2.2.2. Determinaciones fisiológicas.

2.2.2.1. En Rábano.

En las tablas XLIV y XLV se expone el peso fresco de la parte aérea de las plantas de rábano, pertenecientes a una experiencia de tipo B (tratamientos acumulativos) y a suelo no cubierto y cubierto, respectivamente.

Las siguientes, XLVI y XLVII muestran los resultados correspondientes a peso fresco de la raíz y las otras cuatro que le siguen, XLVIII a LI, presentan los valores de peso seco de los materiales con siderados en las cuatro anteriores.

En estas tablas como en las similares de la experiencia A, se incluyen los cálculos estadísticos oportunos y se ha dado al dato obtenido para el tratamiento 1 y 6 el valor de 100 para conocer el incremento porcentual alcanzado en los otros tratamientos.

En las figuras 26 y 27 se han expresado gráficamente los valores medios obtenidos para peso fresco y seco, respectivamente, de la parte aérea y de la raíz de las plantas crecidas en suelo cubierto y no cubierto.

El crecimiento experimentado por la parte aérea y raíz en el rábano, expresado en porcentajes de peso seco, respecto al testigo (tratamiento 1 para suelo no cubierto, SNC, y 6 para suelo cubierto - SC) aparecen representados en los histogramas correspondientes a las figuras 28 y 29, respectivamente.

Las fotografías presentadas en las láminas 1, 2 y 3 corresponden al estado de las plantas de rábano en distintos períodos de su ciclo vegetativo, para suelo cubierto y suelo no cubierto.

En la lámina 1 se muestran los distintos tratamientos a los 30 días; en la lámina 2 se observan a los 45 días, y en la 3 a los 60 días. En todas ellas la foto superior corresponde a plantas que han crecido en suelo no cubierto (tratamientos 1 al 5) y la foto inferior a aquéllas que se han desarrollado en suelo donde se evita que el azufre caiga a él (tratamientos 6 al 10).

Tabla XLIV. Resultados relativos a peso fresco, en gramos, de la parte aérea del rábano, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	16,865	33,205	33,365	60,800	70,780	215,015
II	17,760	24,610	42,580	69,500	72,925	227,375
III	19,005	32,795	49,080	71,135	75,780	247,795
IV	18,435	24,900	41,340	71,675	72,370	228,720
V	23,450	44,905	40,610	71,870	56,550	237,385
Total	95,515	160,415	206,975	344,980	348,405	1156,290
Media	19,101	32,083	41,395	68,996	69,681	
%	100	168	216	361	365	

b) Análisis de la varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	10138,1339	2534,5334	65,19	7,94	0,1% ***
Repeticiones	4	119,2733	29,8183	0,77	-	-
Error	16	622,0891	38,8805	-	-	-
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	8,360	11,519	15,833

Tabla XLV. Resultados relativos a peso fresco, en gramos, de la parte aérea del rábano obtenidos para cada tratamiento. Ensayo - correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	14,865	39,155	30,810	44,230	63,640	192,700
II	15,020	33,380	34,830	82,580	63,075	228,885
III	16,635	40,200	39,015	75,920	79,895	251,665
IV	25,100	32,140	30,790	51,155	70,870	210,055
V	20,905	33,820	46,635	54,000	77,695	233,055
Total	92,525	178,695	182,080	307,885	355,175	1116,360
Media	19,705	35,739	36,416	61,517	71,035	
%	100	193	197	333	384	

b) Análisis de la varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	de F Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	9067,2858	2266,8214	28,90	7,94	0,1% ***
Repeticiones	4	408,5423	102,1355	1,30	2,33	NS
Error	16	1254,8755	78,4297	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	11,874	16,630	22,488

Tabla XLVI. Resultados relativos a peso fresco, en gramos, de la raíz de rábano, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	56,730	54,965	75,865	66,725	75,880	330,165
II	47,315	41,070	76,355	64,570	77,880	307,190
III	32,405	44,220	55,925	64,005	53,245	249,800
IV	34,660	65,905	69,960	71,700	77,905	319,320
V	45,700	58,760	70,965	62,760	74,775	312,960
Total	216,810	264,920	349,070	329,760	358,875	1519,4350
Media	43,362	52,984	69,814	65,952	71,775	
%	100	122	161	152	165	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores Calcul.	de F Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	2967,0854	741,7713	15,08	7,94	0,1% ***
Repeticiones	4	789,4687	197,3671	4,01	3,01	5% *
Error	16	787,0591	49,1999			
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	9,404	12,957	17,812

Tabla XLVII. Resultados relativos a peso fresco, en gramos, de la raíz de rábano, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	35,220	53,280	52,230	31,180	57,990	229,900
II	25,875	43,395	40,335	54,120	79,240	242,965
III	33,745	54,755	42,265	64,680	65,195	260,640
IV	37,660	45,525	70,415	72,645	43,025	269,270
V	25,425	43,925	47,010	45,800	53,040	215,200
Total	157,925	240,880	252,255	268,425	298,490	1217,9750
Media	31,585	48,176	50,451	53,685	59,698	
%	100	153	160	170	189	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	2210,3911	552,5852	3,98	3,01	5% *
Repeticiones	4	388,7927	97,1981	0,70	-	-
Error	16	2223,2937	138,9558	-	-	-
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	15,805	21,777	29,933

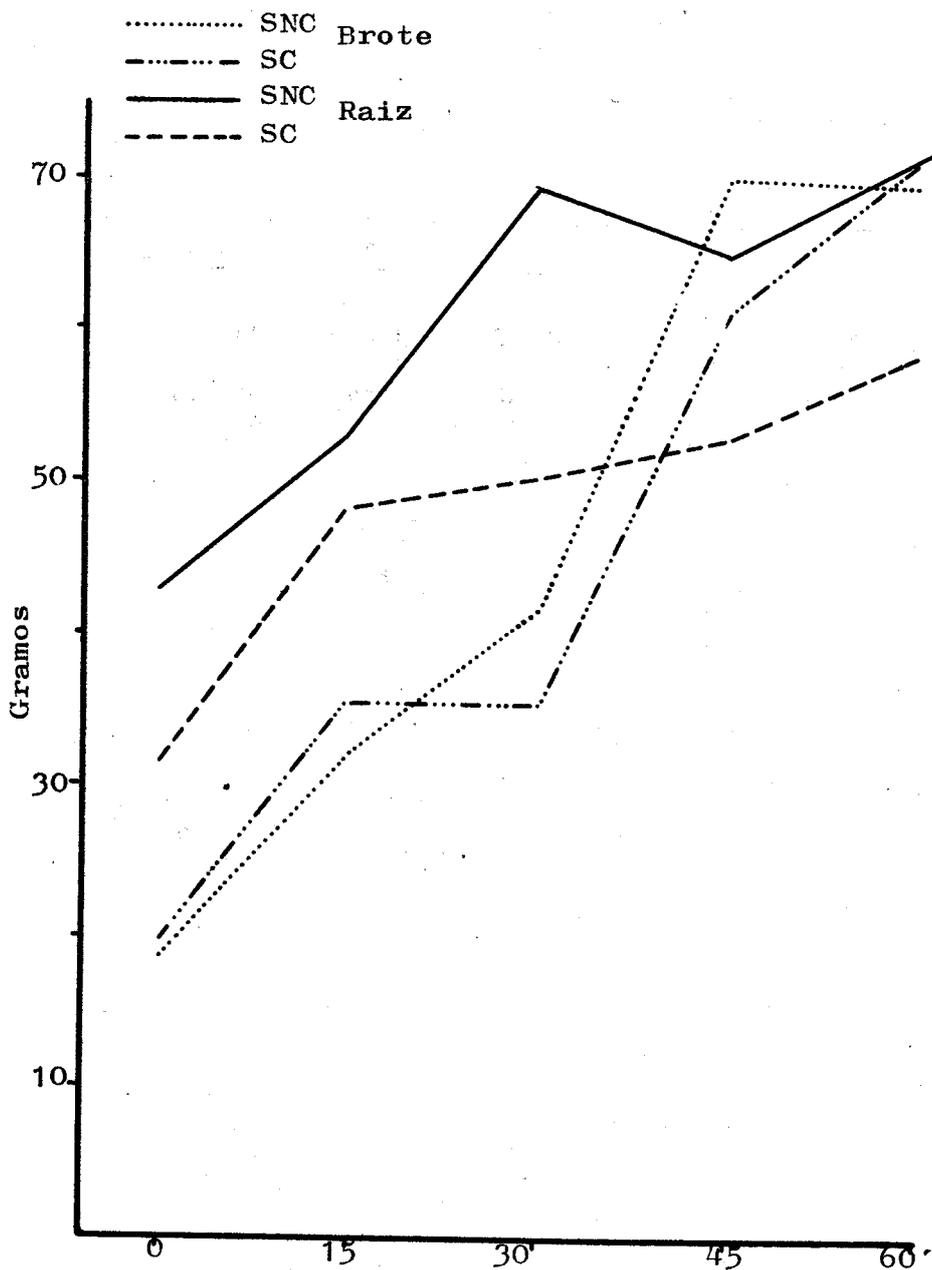


Fig26-Valores medios de peso fresco, obtenidos en rábano, en los tratamientos realizados en suelo(SC) y no cubierto(SNC).

Tabla XLVIII. Resultados relativos a peso seco, en gramos, de la parte aérea del rábano, obtenidos para cada tratamiento. - Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepet.
	1	2	3	4	5	
I	2,0975	4,1301	4,4265	6,6105	7,8044	25,0690
II	2,6650	3,9547	5,2103	8,0766	8,1847	28,0913
III	2,8333	4,0269	6,6273	8,6283	8,6208	30,7366
IV	2,4924	3,2968	5,1314	8,0333	8,1811	27,1350
V	2,9991	6,8025	4,4045	9,0873	6,9841	30,2775
Total	13,0873	22,2110	25,8000	40,4360	39,7751	141,3094
Media	4,6174	4,4422	5,1600	8,0862	7,9550	
%	100	170	197	310	304	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>de F Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	110,7410	27,6852	37,58	7,94	0,1% ***
Repeticiones	4	4,3361	1,0840	1,47		
Error	16	11,7883	0,7367	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	1,150	1,585	2,179

Tabla XLIX. Resultados relativos a peso seco, en gramos, de la parte aérea del rábano, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	2,1934	5,5677	3,8880	5,9164	6,3768	23,9423
II	2,6037	3,3945	4,3341	10,0314	8,3307	28,6944
III	2,3148	5,6440	5,0207	9,3715	7,2203	29,5713
IV	3,4562	3,9915	3,9515	6,5194	8,2800	26,1986
V	3,3189	4,1982	5,4780	5,8586	8,3054	27,1591
Total	13,8870	22,7959	22,6723	37,6973	38,5132	135,5657
Media	2,5774	4,5592	4,5344	7,5394	7,7026	
%	100	164	163	271	277	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	91,0552	22,7638	16,22	7,94	0,1%***
Repeticiones	4	3,8871	0,9717	0,69	-	-
Error	16	22,4508	1,4031	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	1,588	2,188	3,008

Tabla L. Resultados relativos a peso seco, en gramos, de la raíz de rábano, obtenidos para tratamiento. Ensayo correspondiente a -suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	5,150	5,884	8,401	5,394	4,562	29,3910
II	4,706	6,309	7,352	5,718	6,715	30,8000
III	4,146	5,050	7,386	6,217	4,589	27,3880
IV	4,123	5,306	8,282	6,410	7,384	31,5050
V	4,741	7,619	8,083	5,374	5,233	31,0500
Total	22,866	30,168	39,504	29,113	28,483	150,1340
Media	4,573	6,034	7,901	5,823	5,697	
%	100	132	173	127	124	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>de F Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	28,8665	7,2166	10,37	7,94	0,1% ***
Repeticiones	4	2,2394	0,5598	0,80		
Error	16	11,1367	0,6960			
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	1,1185	1,5419	2,1183

Tabla LI. Resultados relativos a peso seco, en gramos, de la raíz - de rábano, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	3,997	7,963	5,105	6,212	4,748	28,0230
II	3,987	5,321	4,446	6,359	5,242	25,3550
III	4,294	7,687	5,838	6,270	6,671	30,7600
IV	4,387	5,560	7,181	8,160	4,845	30,1330
V	3,390	5,795	8,212	6,611	4,488	28,4960
Total	20,0550	32,3260	30,7800	33,6120	25,9940	142,7670
Media	4,0110	6,4652	6,1560	6,7224	5,1988	
%	100	161	153	168	130	

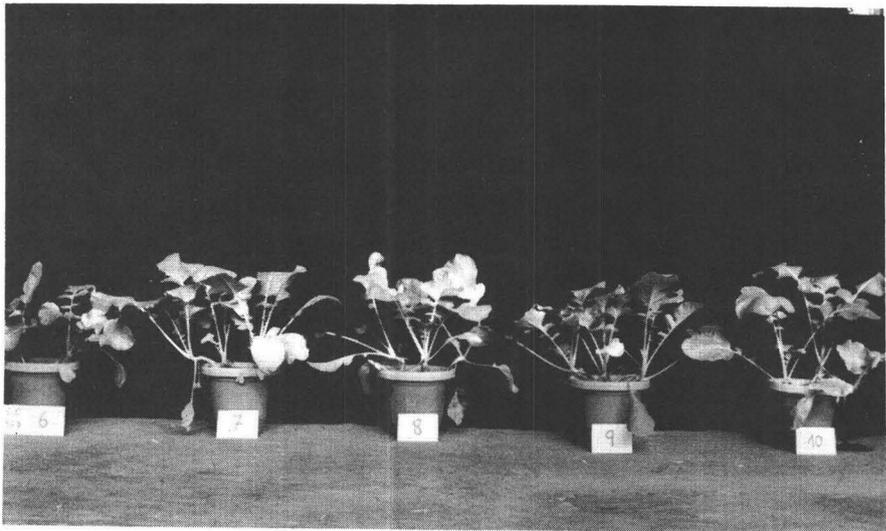
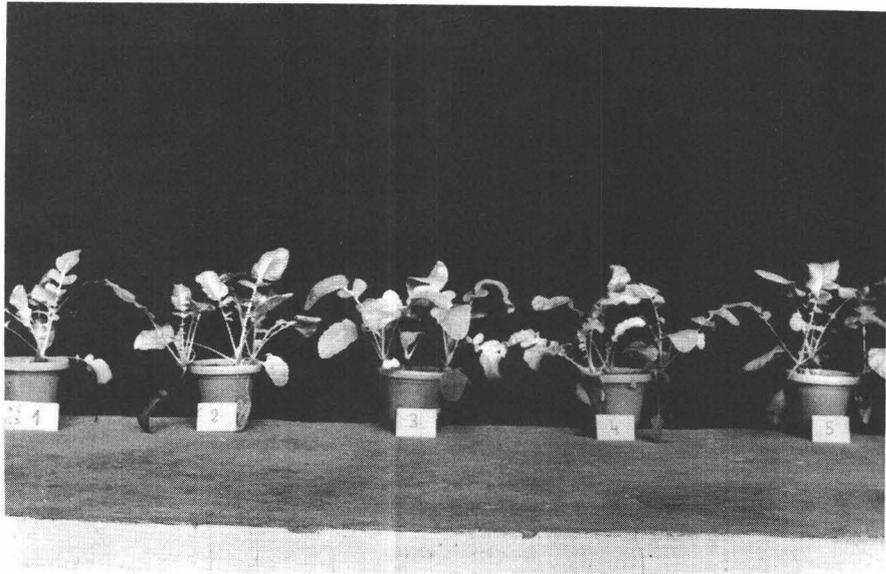
b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	22,7089	6,1772	6,20	4,77	1% **
Repeticiones	4	3,5700	0,8925	0,86	-	-
Error	16	15,9469	0,9966	-	-	-
Total	24					

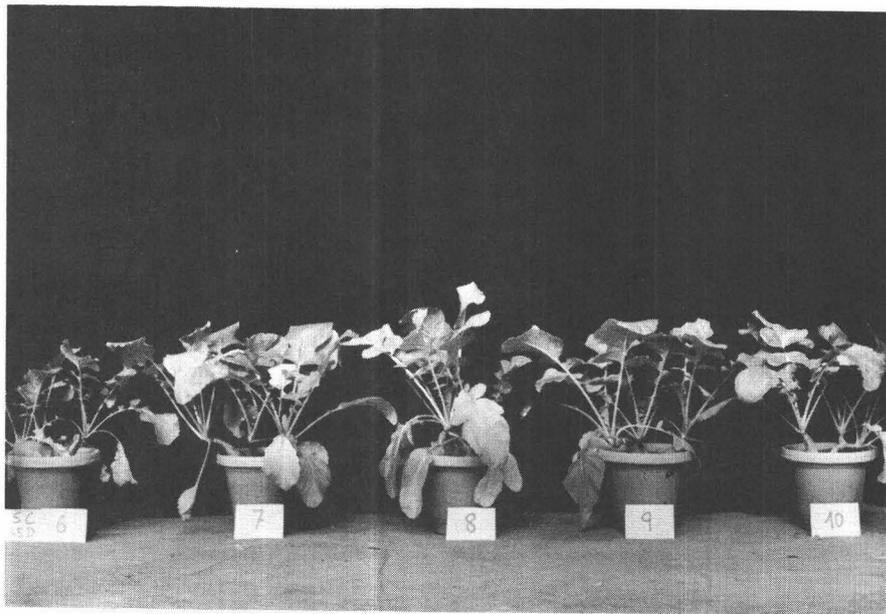
c) Mínimas diferencias significativas.

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	1,3383	1,8440	2,5346

LAMINA 1



LAMINA 2



LAMINA 3



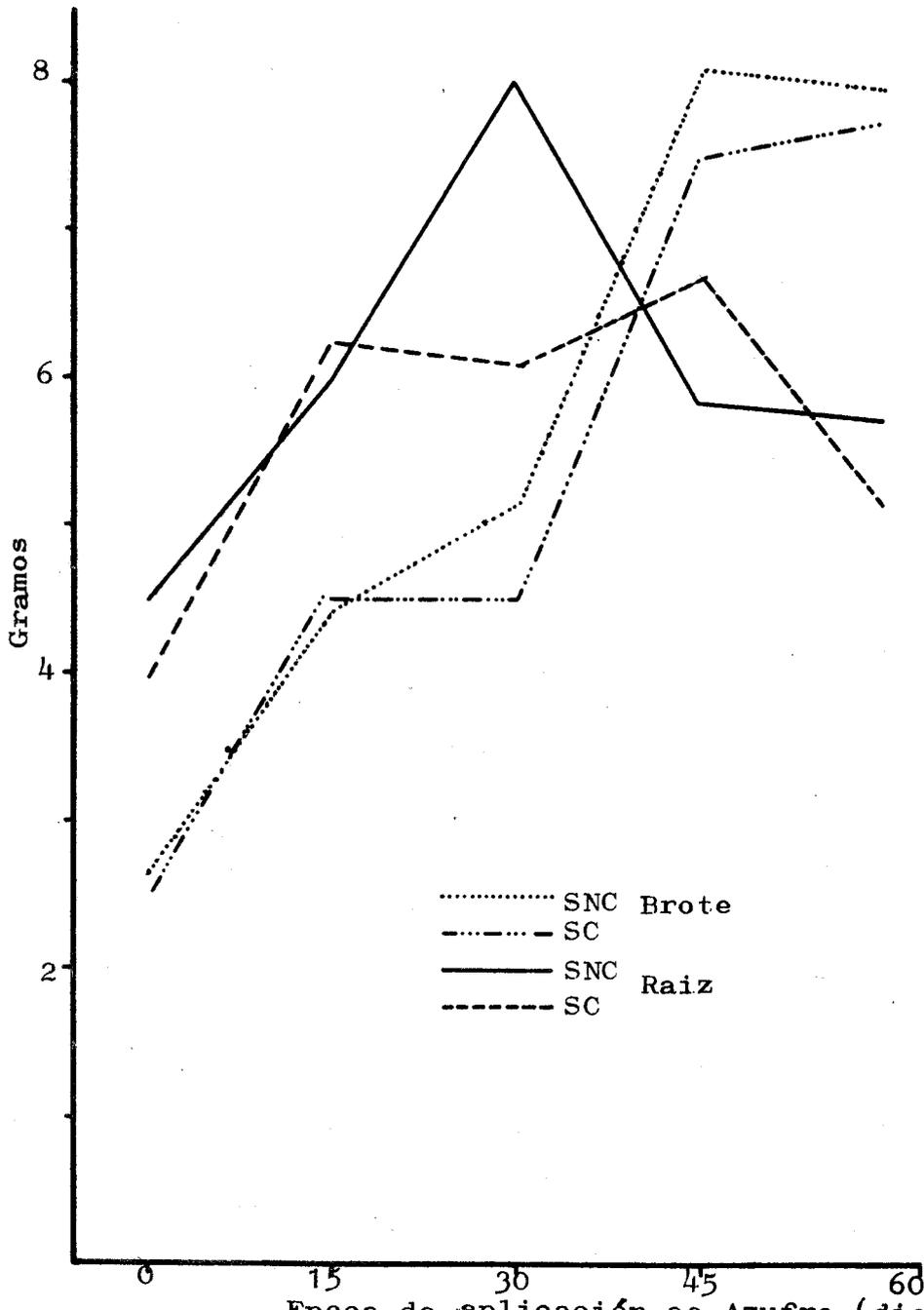


Fig. 27.- Valores medios de peso seco, obtenidos en rábano, en los tratamientos realizados en suelo cubierto(SC) y no cubierto(SNC).

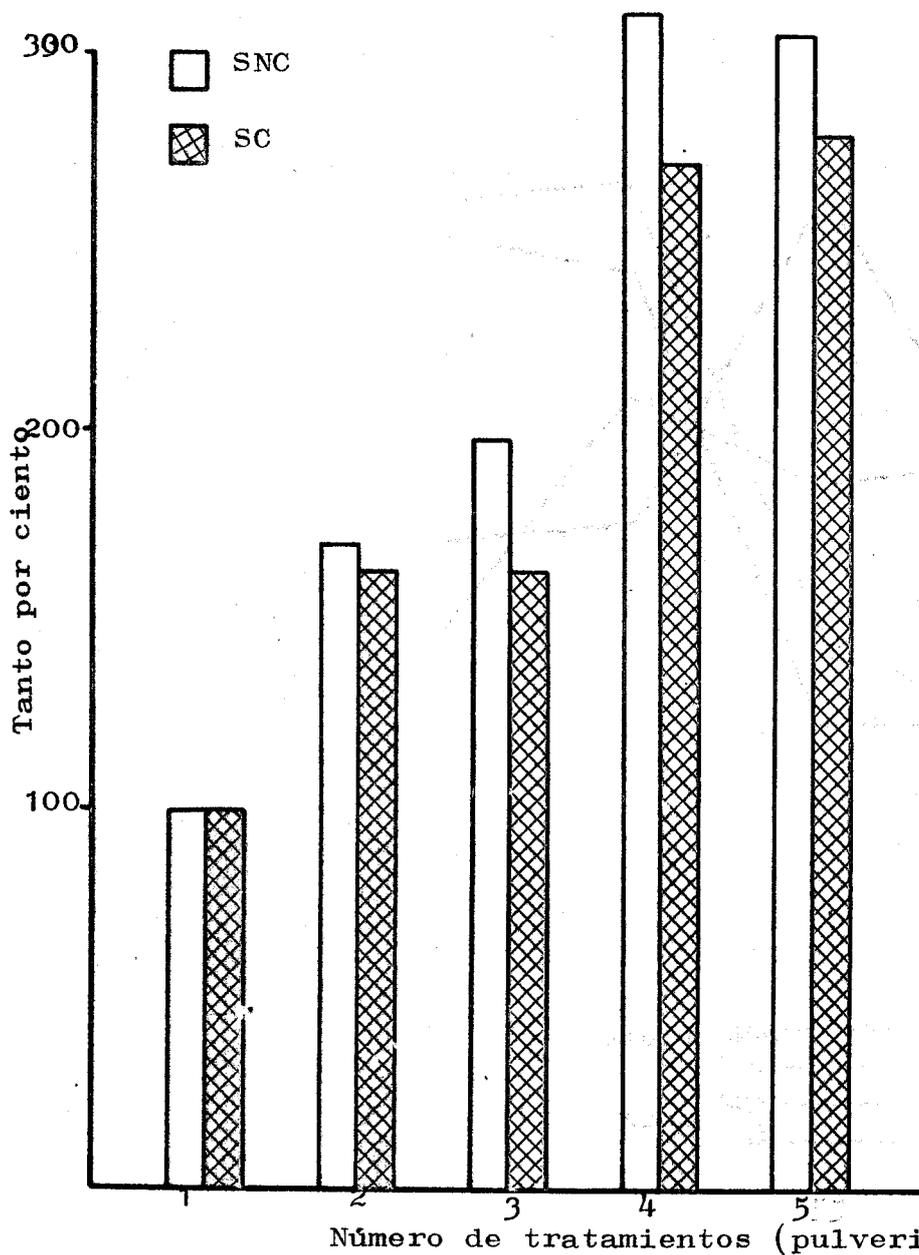
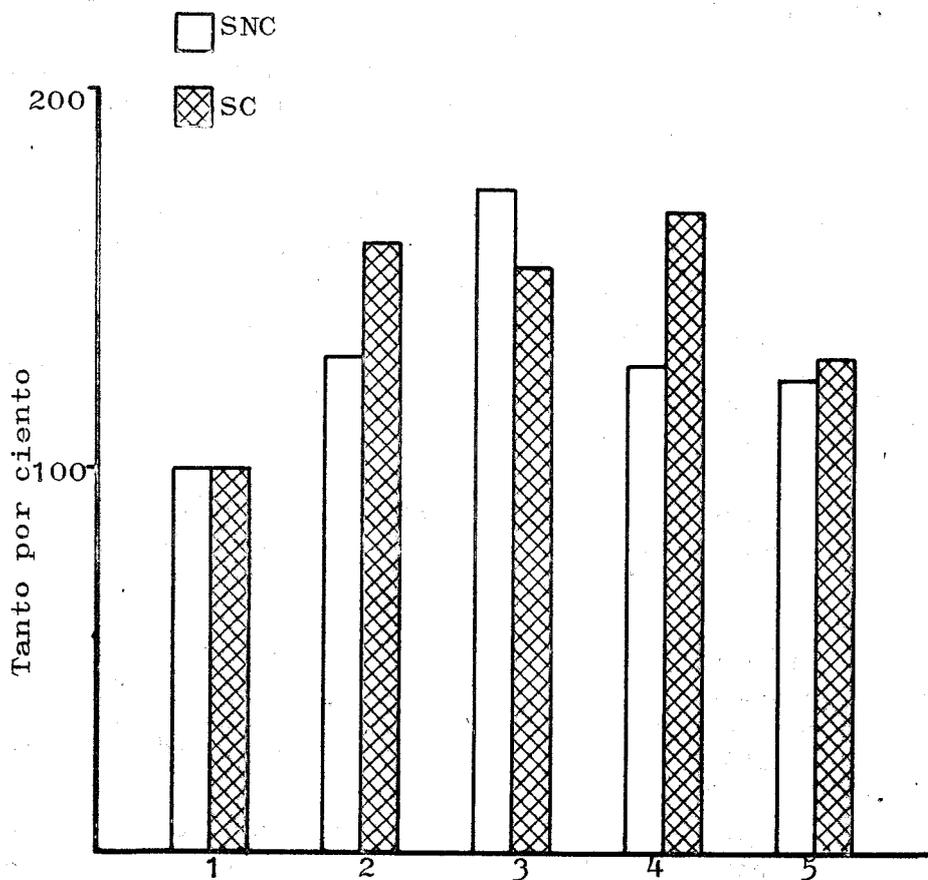


Fig. 28.- Valores porcentuales de parte aérea del rábano, peso seco, en suelo no cubierto y cubierto, considerando como 100 los resultados obtenidos para las plantas que reciben un solo tratamiento.



Número de tratamientos (pulverizaciones).
 Fig.29.- Valores porcentuales de la raíz de rábano, peso seco, en suelo no cubierto y cubierto, considerando como 100 los resultados obtenidos para las plantas que reciben un solo tratamiento.

2.2.2.2. En Judia.

En las tablas LII y LIII, se expone el peso en fresco alcanzado por la parte aérea de las plantas de judía, pertenecientes a una experiencia tipo B, tratamientos acumulativos, y a suelo no cubierto y cubierto, respectivamente.

Las siguientes, LIV y LV muestran los resultados correspondientes a peso fresco de los frutos, y en otras cuatro expuestas a continuación, LVI, LVII, LX y LXI, se representan los valores de peso seco correspondientes a los materiales considerados en las tablas anteriores.

En estas tablas, como en las similares de la experiencia tipo A, se incluyen los cálculos estadísticos oportunos y se ha dado al dato obtenido para el tratamiento 1 y 6 el valor 100, para conocer el incremento porcentual alcanzado por los otros tratamientos.

Se han construido las tablas LVIII y LIX en las que se expresan las diferencias entre los valores de peso fresco y seco, respectivamente, de la parte aérea de plantas de judía crecidas en suelo cubierto y no cubierto, el nivel de probabilidad y el tanto por ciento que supone esta diferencia.

En las figuras 30 y 31 se han representado gráficamente los valores medios obtenidos para peso fresco y seco respectivamente, de la parte aérea y del fruto de las plantas crecidas en suelo cubierto y no cubierto.

El crecimiento experimentado por el brote y fruto en judía, por los distintos tratamientos, respecto al testigo (tomando el tratamiento 1 para suelo no cubierto, SNC, y 6 para suelo cubierto, SC) expresado en porcentajes de peso seco, aparecen representados en los histogramas 32 y 33, respectivamente.

En las tablas LXII y LXIII se exponen el número de flores y frutos nuevos que, hasta el día de la lectura, han aparecido en los distintos lotes. Son, por lo tanto, resultados acumulativos y de todo el tratamiento. Para mayor claridad se han representado gráficamente en las figuras 34 y 35, los datos de las tablas correspondientes a la evolución de la floración. De la misma forma, los datos pertenecientes a fructificación han sido incluidos en las figuras 36 y 37 refiriéndose la primera a suelo no cubierto y la segunda a suelo cubierto, tanto en la evolución de la floración como en la de la fructificación.

Tabla LII. Resultados relativos a peso fresco, en gramos, de la parte aérea de la planta de judía obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	20,050	48,860	53,680	60,770	67,125	250,485
II	21,755	40,820	55,525	64,550	66,640	249,290
III	19,120	47,925	58,555	59,080	63,150	247,830
Total	60,925	137,605	167,760	184,400	196,915	747,605
Media	20,308	45,868	55,920	61,467	65,638	
E_m	<u>+0,6</u>	<u>+2,5</u>	<u>+1,4</u>	<u>+1,5</u>	<u>+1,3</u>	
%*	100	226	275	303	323	

* Considerando el tratamiento 1 como 100.

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	3928,8797	982,2199	99,79	14,39	0,1% ***
Repeticiones	2	0,7072	0,3536	0,03		
Error	8	78,7408	9,8426	-		
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	5,907	8,594	12,912

Tabla LIII. Resultados relativos a peso fresco, en gramos, de la parte aérea de la planta de judía, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	21,600	61,290	70,415	77,510	74,910	305,725
II	21,100	66,070	55,630	81,245	77,375	301,420
III	25,000	62,760	67,065	78,060	77,160	310,045
Total	67,700	190,120	193,110	236,815	229,445	917,190
Media	22,567	63,373	64,370	78,938	76,482	
E _m	<u>±1,2</u>	<u>±1,2</u>	<u>±4,4</u>	<u>±1,1</u>	<u>±1,0</u>	
%*	100	281	285	350	339	

* Considerando el tratamiento 6 como 100

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	6166,4098	1541,6024	84,70	14,39	0,1% ***
Repeticiones	2	7,4391	3,7195	0,20	-	-
Error	8	145,6093	18,2011			
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	8,032	11,686	17,559

Tabla LIV. Resultados relativos a peso fresco, en gramos, del fruto - en la planta de judía, obtenidos para cada tratamiento. En sayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	6,075	22,650	24,705	31,060	30,815	115,305
II	6,230	17,600	24,850	32,075	35,640	116,395
III	7,660	22,910	23,155	29,440	29,050	112,215
Total	19,965	63,160	72,710	92,575	95,505	343,915
Media	6,655	21,053	24,237	30,858	31,835	
%*	100	316	364	464	478	

* Considerando el tratamiento 1 como 100.

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	1236,7871	309,1967	33,61	14,39	0,1% ***
Repeticiones	2	1,8806	0,9403	0,16		
Error	8	46,1412	5,7676	-		
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	4,522	6,578	9,884

Tabla LV. Resultados relativos a peso fresco, en gramos, del fruto en la planta de judía, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	5,550	23,955	22,290	36,700	33,555	123,050
II	6,800	21,820	26,325	32,195	35,675	122,815
III	6,275	25,860	25,770	36,260	35,975	130,140
Total	19,625	71,635	74,385	105,155	105,205	376,005
Media	6,542	23,878	24,795	35,052	35,068	
%*	100	365	379	536	536	

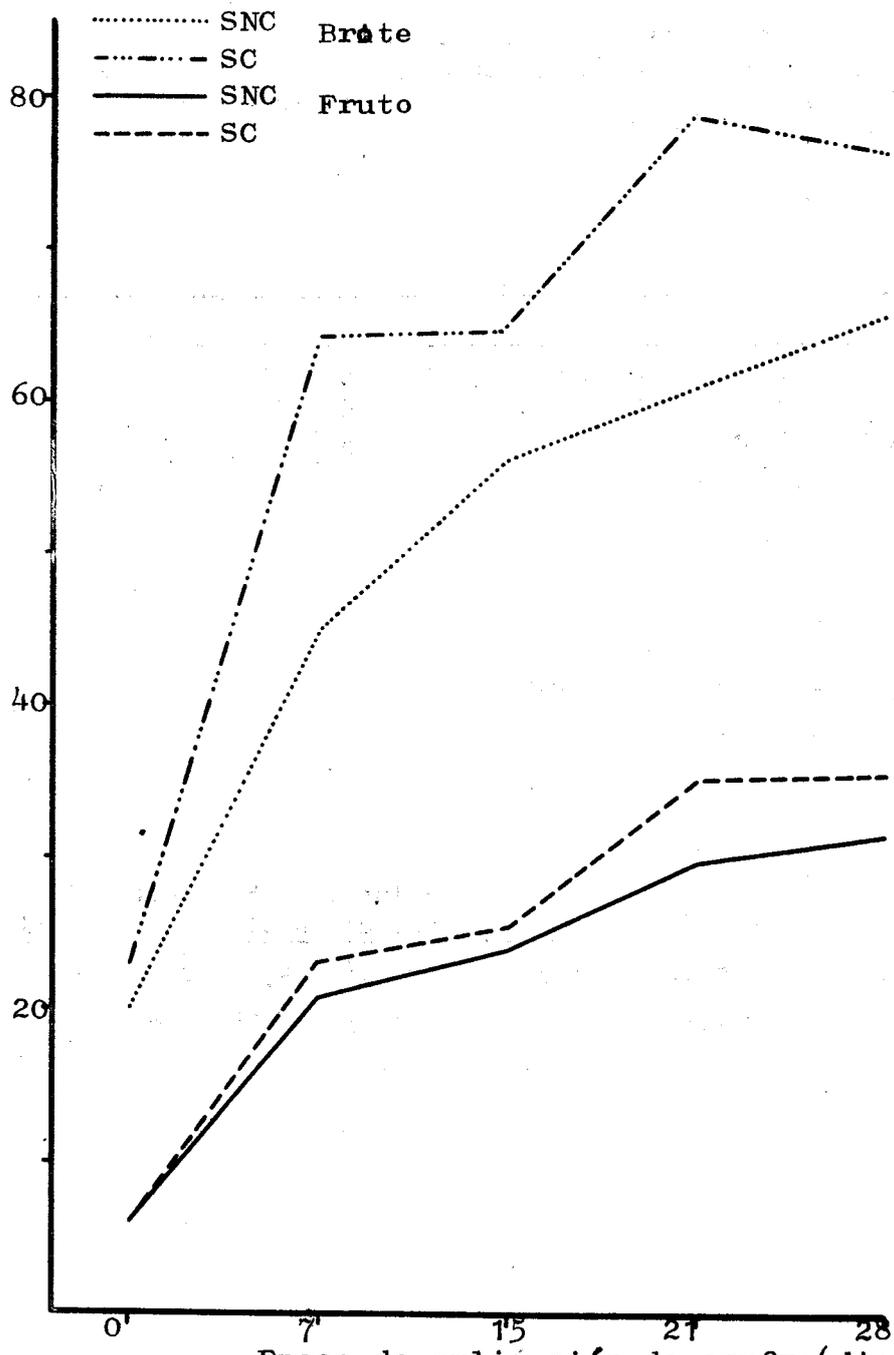
* Considerando el tratamiento 6 como 100.

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	1633,1853	408,2963	122,06	14,39	0,1% ***
Repeticiones	2	6,9319	3,4659	1,03		NS
Error	8	26,7600	3,3450	-		
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	3,443	5,010	7,568



Epoca de aplicación de azufre (días).
 Fig. 30.- Valores medios de peso fresco obtenidos en judia en los tratamientos realizados en suelo cubierto (SC) y no cubierto (SNC).

Tabla LVI. Resultados relativos a peso seco, en gramos, de la parte - aérea de la planta de judía, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	1,9101	4,3134	4,8369	4,9094	5,5943	21,5641
II	1,7734	3,7572	4,2989	5,0439	5,2965	20,1699
III	1,9704	4,0875	4,7254	4,4247	5,6384	20,8464
Total	5,6539	12,1582	13,8612	14,3780	16,5292	62,5804
Media	1,8846	4,0527	4,6204	4,7926	5,5097	
Em	± 0,18	± 0,27	± 0,22	± 0,30	± 0,25	
%*	100	215	245	254	292	

* Considerando el tratamiento 1 como 100.

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	22,8662	5,7165	107,86	14,39	0,1% ***
Repeticiones	2	0,1945	0,0972	1,83	4,46	NS
Error	8	0,4245	0,0530	-		
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,4330	0,6300	0,9466

Tabla LVII. Resultados relativos a peso seco, en gramos, de la parte aérea de la planta de judía, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	2,3762	5,5685	6,2716	5,5906	6,2231	26,0600
II	3,4710	5,3905	5,0801	5,6089	5,9843	35,5348
III	2,5919	5,4375	5,4502	5,6749	6,1522	25,3066
Total	8,4391	16,3964	16,8019	16,8744	18,3596	76,8714
Media	2,8130	5,4654	5,6006	5,6248	6,1199	
E_m	± 0,33	± 0,05	± 0,35	± 0,25	± 0,07	
%*	100	194	199	200	218	

* Considerando el tratamiento 6 como 100.

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	20,7807	5,1951	29,43	7,94	0,1% ***
Repeticiones	2	0,0547	0,0273	0,15	-	
Error	8	1,4120	0,1765			
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,7907	1,1504	1,7285

Tabla LVIII. Diferencia entre los valores de peso fresco de la parte aérea de las plantas de judía crecidas en suelo cubierto y no cubierto, nivel de significación y tanto por ciento que representa esta diferencia.

Tratamientos (días)	SC	SNC	Diferencia (g)	Nivel de significación	% de incremento
0	22,567	20,308	2,259	NS	11,1
7	63,373	45,868	17,505	0,01	38,1
14	64,370	55,920	8,450	0,05	15,1
21	78,938	61,467	17,591	0,001	28,6
28	76,482	65,638	10,844	0,001	16,5

Tabla LIX. Diferencia entre los valores de peso seco de la parte aérea de las plantas de judía crecidas en suelo cubierto y no cubierto, nivel de significación y tanto por ciento que representa esta diferencia.

Tratamientos (días)	SC	SNC	Diferencia (g)	Nivel de significación	% de incremento
0	2,8130	1,8846	0,9284	0,1	49,2
7	5,4654	4,0527	1,4127	0,01	34,8
14	5,6006	4,6204	0,9802	0,1	21,2
21	5,6248	4,7926	0,8322	0,0001	17,3
28	6,1199	5,5097	0,6102	0,1	11,07

Tabla LX. Resultados relativos a peso seco, en gramos, del fruto en la planta de judía, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	0,331	2,007	2,184	2,418	2,429	9,369
II	0,825	2,483	2,311	3,531	3,798	12,948
III	0,737	2,177	2,245	2,473	2,921	10,553
Total	1,8930	6,6670	6,7400	8,4220	9,1480	32,870
Media	0,6310	2,2223	2,2467	2,8073	3,0493	
%*	100	352	356	445	483	

* Considerando el tratamiento 1 como 100.

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	10,6628	2,6657	31,29	14,39	0,1% ***
Repeticiones	2	1,3298	0,6649	7,80	4,46	5% *
Error	8	0,6818	0,0852	-	-	-
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,5495	0,7994	1,2012

Tabla LXI. Resultados relativos a peso seco, en gramos, del fruto en la planta de judía, obtenidos para cada tratamiento. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					Σ Repetic.
	6	7	8	9	10	
I	0,618	2,189	2,488	3,824	3,227	12,3460
II	0,437	2,974	2,573	3,776	2,323	12,0840
III	0,879	1,950	2,740	3,478	4,305	13,3520
Total	1,9340	7,1130	7,8020	11,0780	9,8550	37,7820
Media	0,6447	2,3710	2,6007	3,6927	3,2850	
%*	100	368	403	573	509	

* Considerando el tratamiento 6 como 100.

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>de F Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	16,5177	4,1294	12,88	7,01	1% **
Repeticiones	2	0,1792	0,0896	0,27	-	-
Error	8	2,5653	0,3206	-	-	
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	1,0658	1,5506	2,3299

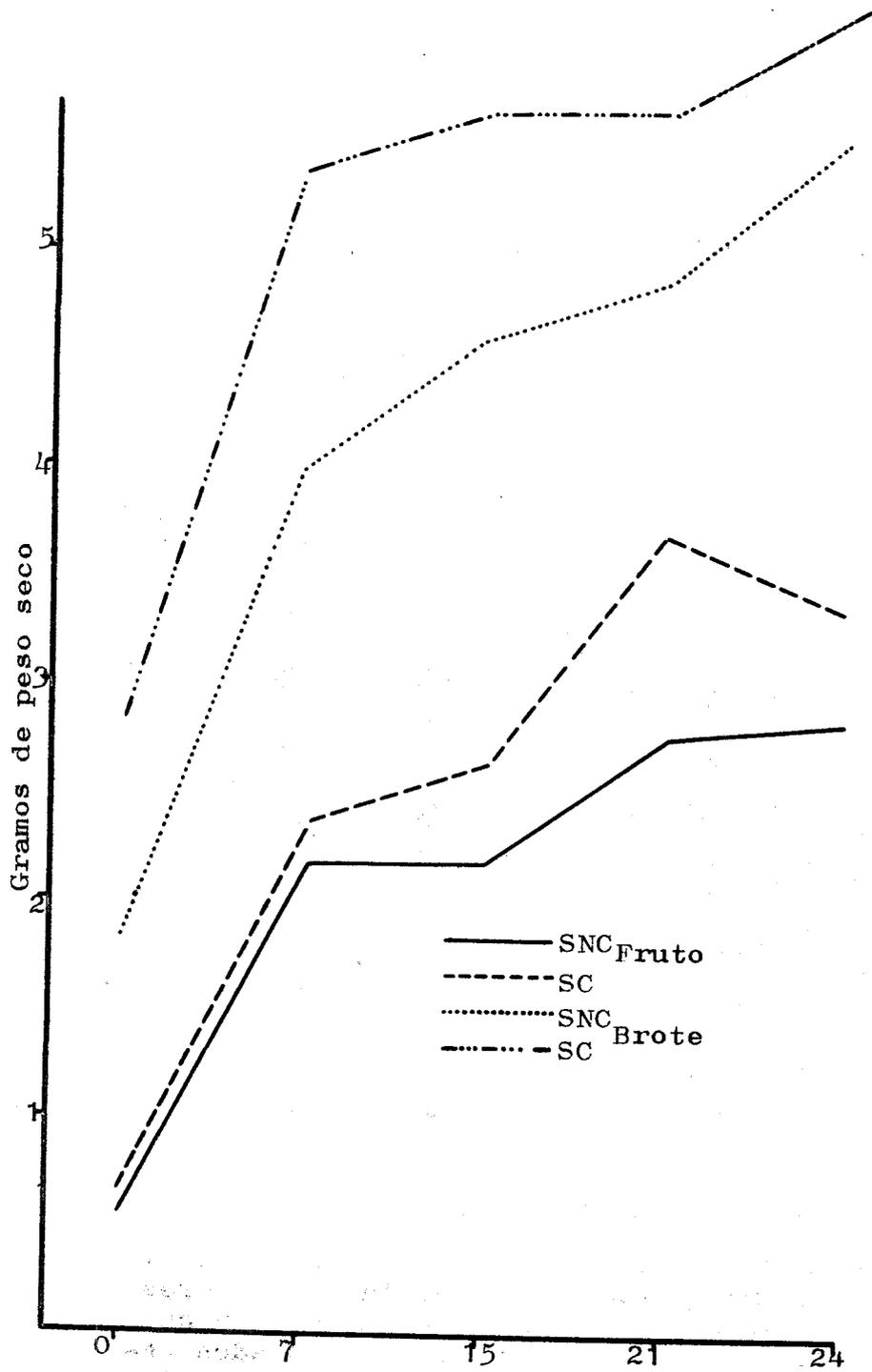
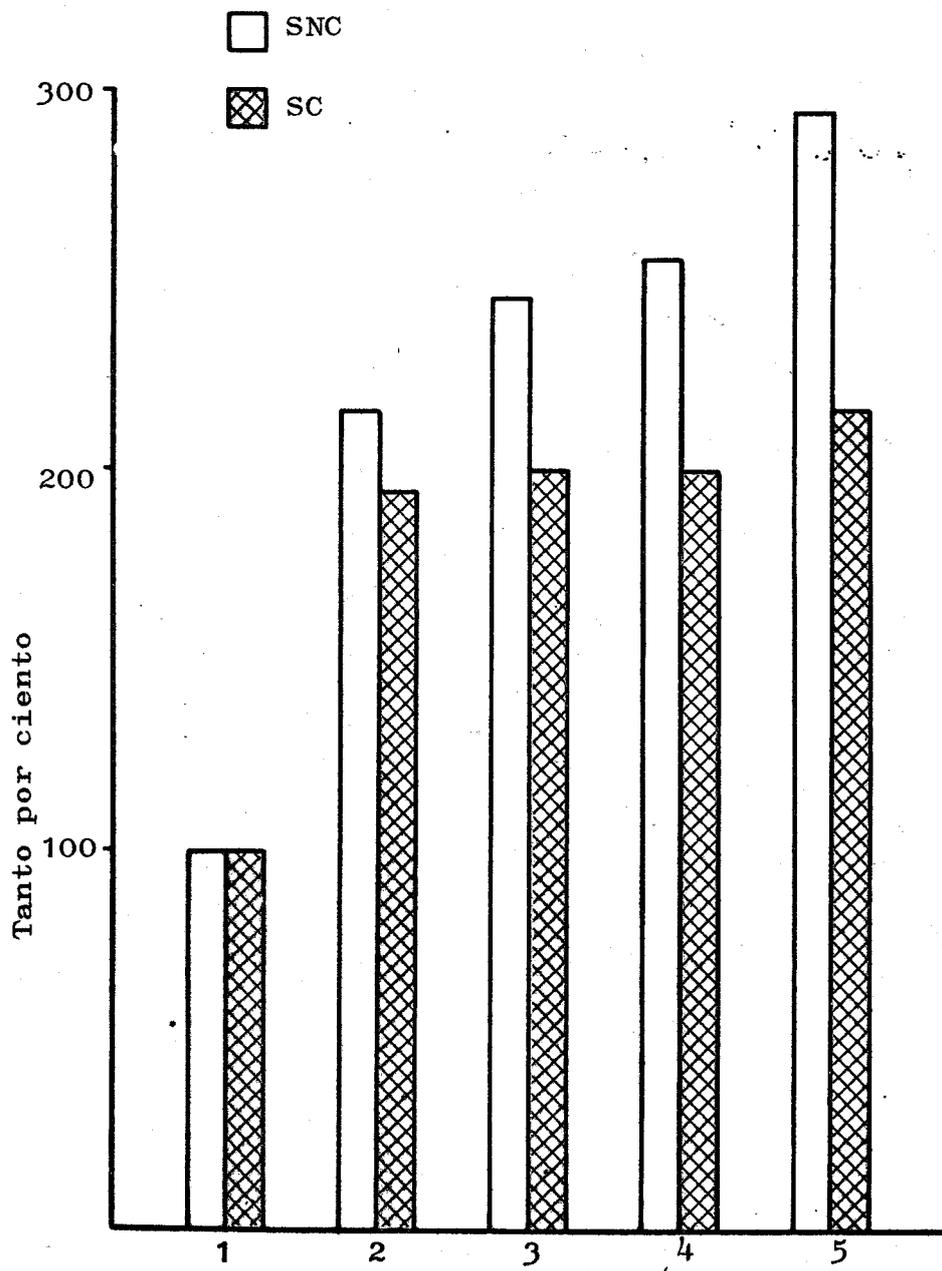
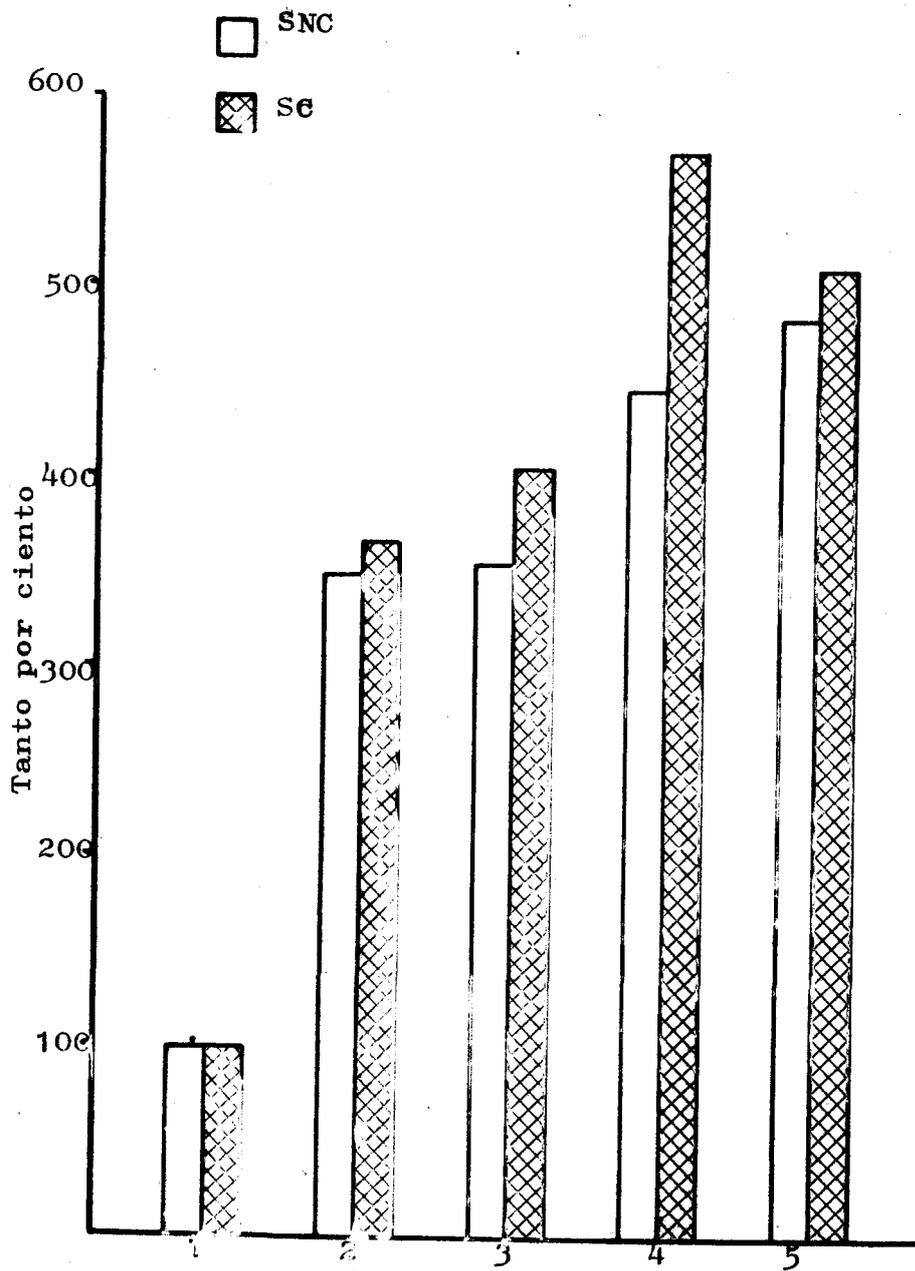


Fig. 31.- Valores medios de peso seco, obtenidos en los tratamientos realizados en suelo cubierto (SC) y no cubierto (SNC).



Número de tratamientos (pulverizaciones).
 Fig. 32.- Valores porcentuales de la parte aérea de judía, peso seco, en suelo no cubierto y cubierto, considerando como 100 los resultados obtenidos para las plantas que reciben un solo tratamiento.



Número de tratamientos (pulverizaciones).
 Fig. 33.- Valores porcentuales del fruto, en judia, peso seco, en suelo no cubierto y cubierto, considerando como 100 los resultados obtenidos para las plantas que reciben un solo tratamiento.

Tabla LXII. Evolución de la floración. Número de flores totales.

Días	Tratamientos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2					1				1	3
4					6			2	6	7
6		4	5	3	13		2	7	12	12
8	6	10	11	10	21	5	8	14	20	22
10	11	16	21	18	29	12	22	30	34	38
12	19	33	39	35	44	21	37	39	44	53
14	28	37	41	41	52	30	47	46	53	57
16	30			43	50	32				
18	31									
Total	31	37	41	43	50	32	47	46	53	57
%	100	123	137	143	173	100	147	144	165	170

Tabla LXIII. Evolución de la fructificación. Número de frutos totales

Días	Tratamientos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2			1	1	3			2	2	5
4	4	5	7	9	11	4	6	9	9	14
6	10	13	15	18	23	9	15	17	20	26
8	17	21	24	29	34	19	24	26	31	37
10	24	29	31	34	41	28	34	35	39	44
12	28	33	37	42	49	30	42	44	51	51
Total	28	33	37	42	49	30	42	44	51	51
%	100	117	132	150	175	100	140	146	170	170

Las fotografías presentadas en las láminas 4, 5 y 6 corresponden al estado de las plantas de judía en distintos periodos de su ciclo vegetativo, para suelo no cubierto y suelo cubierto.

En la lámina 4 se muestran los distintos tratamientos a los 14 días; en la lámina 5 se observan a los 21 días y en la 6, a los 28 días. En todos ellos la foto superior corresponde a plantas que han crecido en suelo no cubierto (tratamientos 1 al 5) y la foto inferior a aquellas que se han ido desarrollando en suelo donde se ha evitado que el azufre caiga a él (tratamientos 6 al 10).

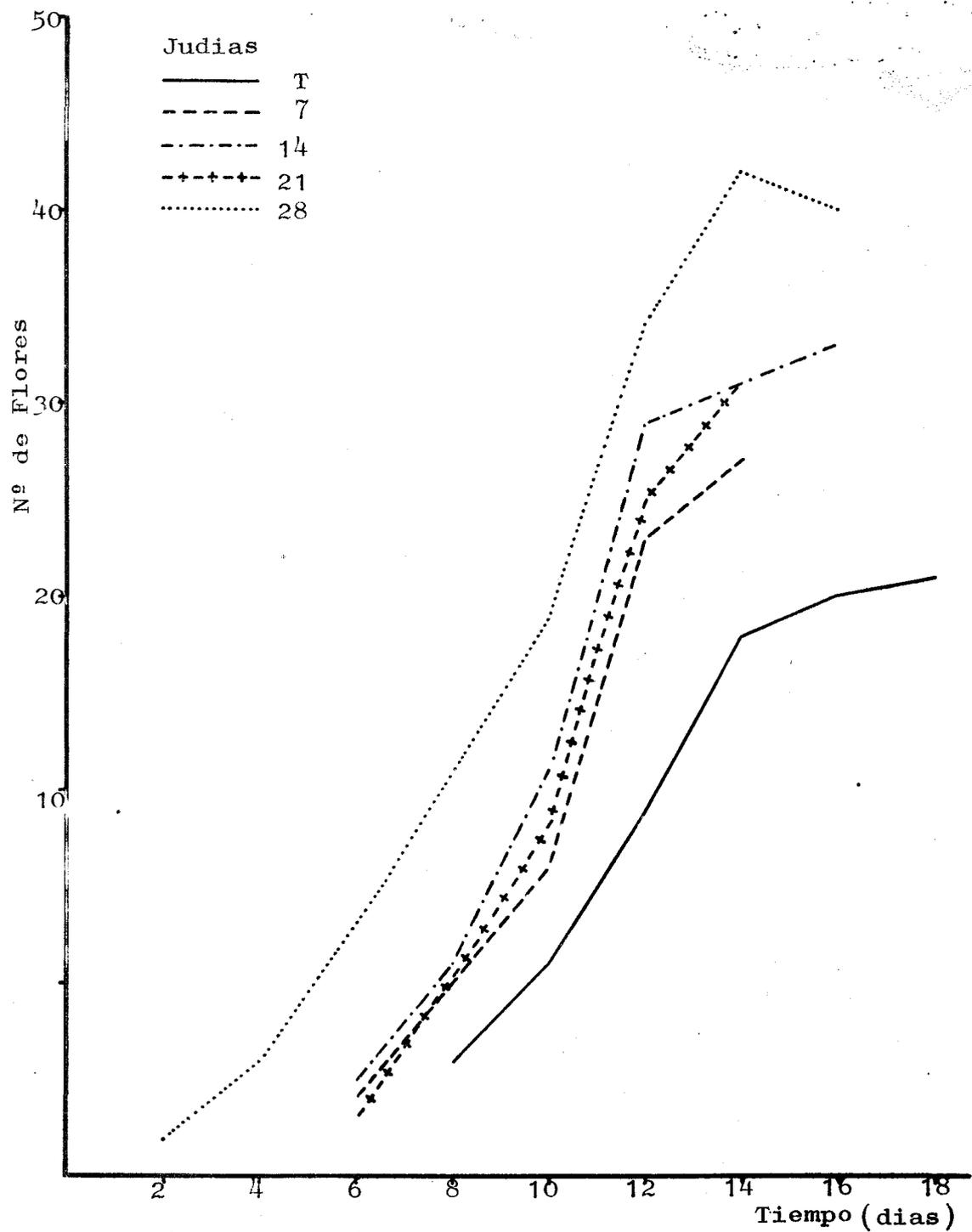


Fig. 34.- Evolución de la floración. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

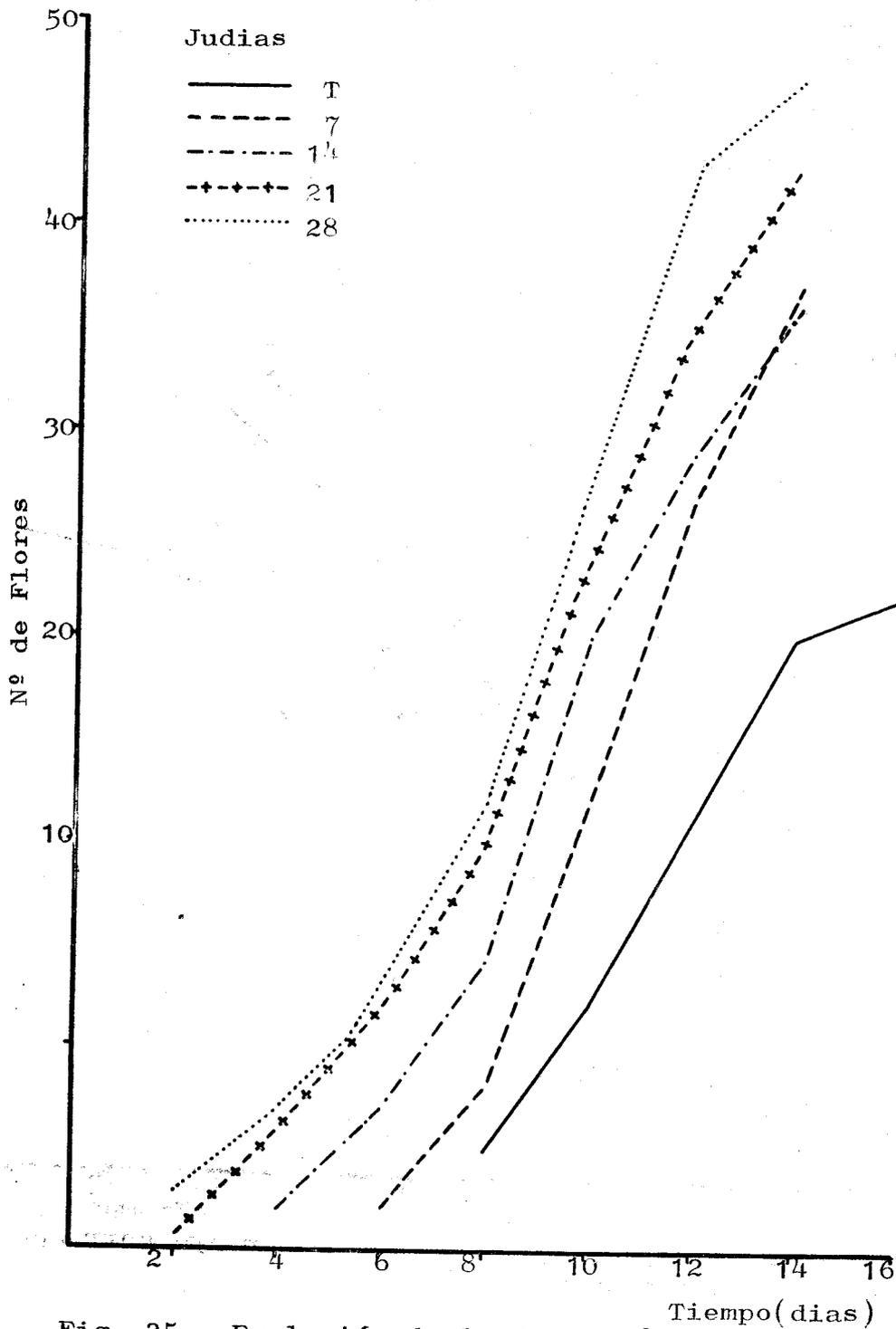


Fig. 35.- Evolución de la floración. Ensayo correspondiente a suelo cubierto.

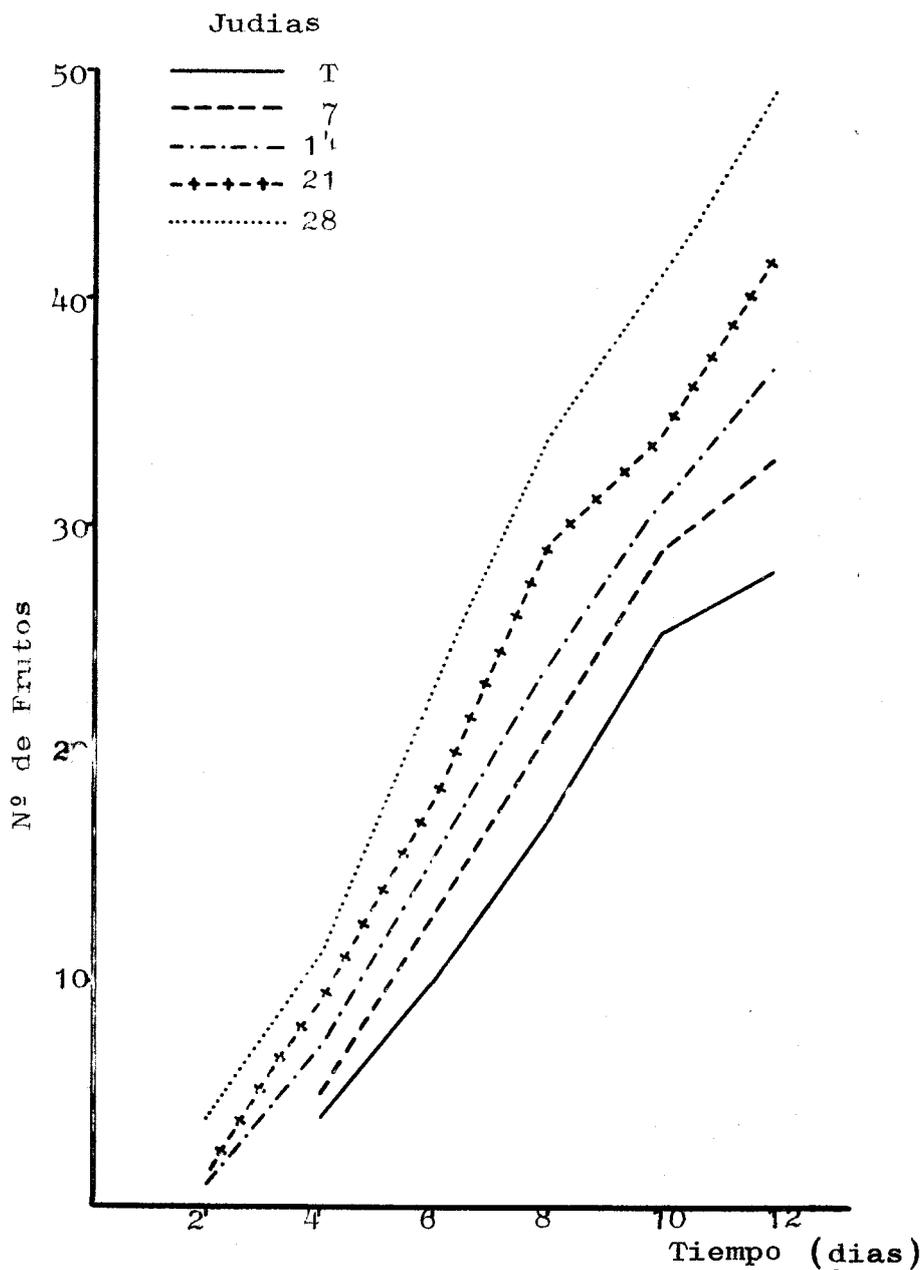


Fig. 36.- Evolución de la fructificación.
 Ensayo correspondiente a suelo no cubierto(SNC).

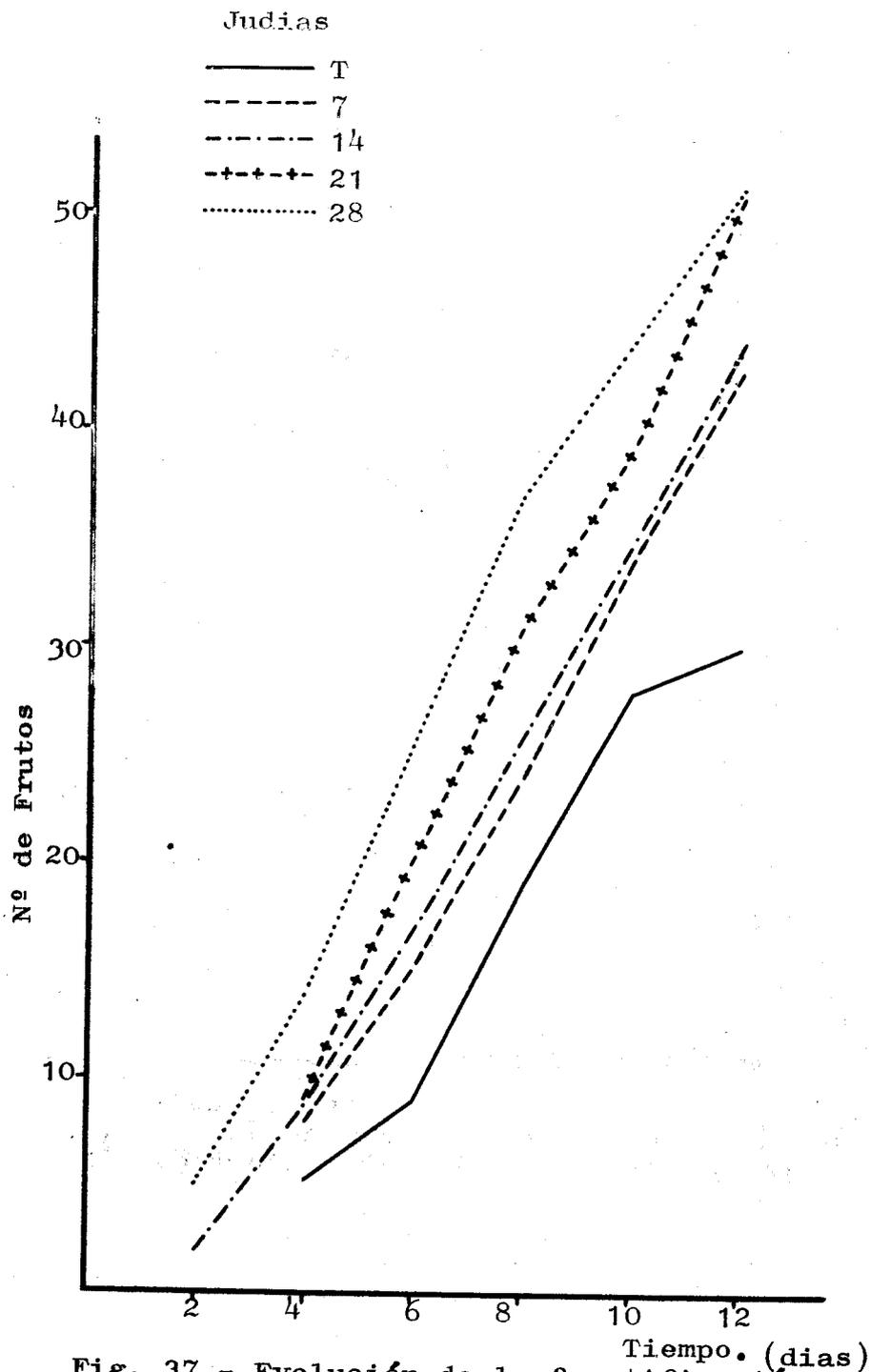
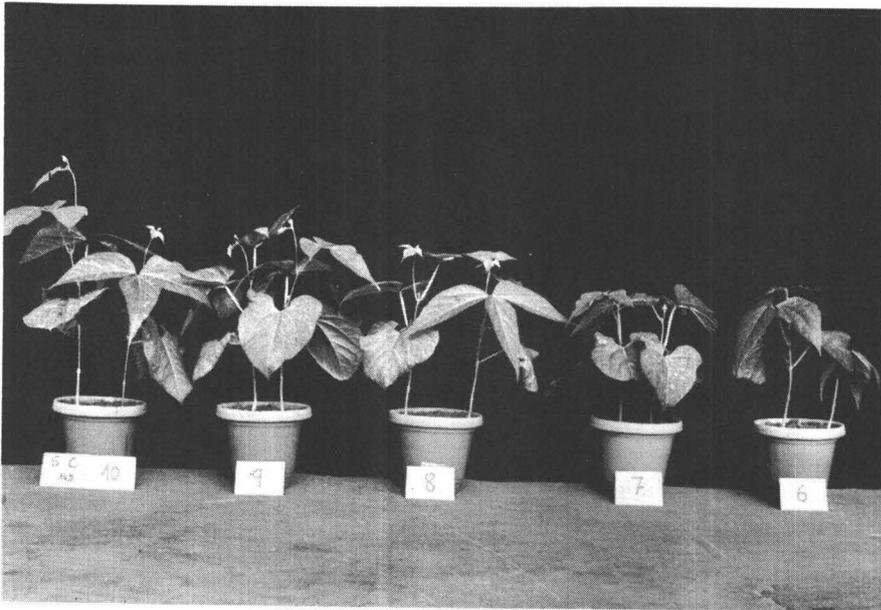


Fig. 37.- Evolución de la fructificación. Ensayo correspondiente a suelo cubierto(SC).

LAMINA 4



LAMINA 5



LAMINA 6



2.2.3. Determinaciones analíticas.

2.2.3.1. En rábano.

En las tablas LXIV a LXIX son expuestos los resultados correspondientes al contenido, concentración, en nitrógeno, fósforo y potasio, obtenidos de las determinaciones realizadas en la parte aérea del rábano. Los tres elementos vienen expresados en tantos por ciento, peso seco, salvo el fósforo cuyos valores han sido multiplicados por 10.

De cada dos tablas, la primera corresponde a suelo no cubierto y la segunda a suelo cubierto.

En la figura 38 se han representado gráficamente los resultados obtenidos en cuanto a concentraciones se refiere, mientras que en la siguiente gráfica, figura 39, se han tenido en cuenta la cantidad total de elemento absorbido por la planta.

La determinación del contenido de clorofila en mg/gramo de parte aérea, peso seco, viene expresada en la tabla LXX y su representación gráfica en la figura 40.

Tabla LXIV. Contenido de nitrógeno determinado en la parte aérea. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	2,058	2,282	2,814	3,332	2,002	12,488
II	2,086	2,324	1,314	3,920	2,660	12,304
III	1,652	2,506	2,492	2,744	2,954	12,348
IV	2,450	2,716	2,590	2,884	2,996	13,636
V	2,170	1,582	2,716	2,940	3,416	12,824
Total	10,416	11,410	11,926	15,820	14,028	63,600
Media	2,083	2,282	2,385	3,164	2,805	
Em	+0,13	+0,18	+0,25	+0,21	+0,23	
%	100	109	114	152	135	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F</u>	<u>de F</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
				<u>Calcul.</u>	<u>Real</u>	
Tratamientos	4	3,7951	0,9487	3,52	3,01	5% *
Repeticiones	4	0,2429	0,0607	0,22	-	-
Error	16	4,3119	0,2697	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,695	0,958	1,317

Tabla LXV. Contenido en nitrógeno determinado en la parte aérea. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	2,142	2,142	2,590	3,794	2,226	12,894
II	2,268	3,360	2,450	2,814	3,192	14,084
III	2,254	2,002	2,492	2,818	2,912	12,558
IV	1,988	2,506	2,436	3,472	3,472	13,874
V	1,890	2,436	2,044	3,778	2,800	12,948
Total	10,542	12,446	12,012	16,756	14,602	66,358
Media	2,108	2,489	2,402	3,351	2,920	
Em	± 0,07	± 0,33	± 0,14	± 0,31	± 0,29	
%	100	118	114	159	139	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	3,7951	0,9487	3,52	3,01	5% *
Repeticiones	4	0,2429	0,0607	0,22	-	-
Error	16	4,3119	0,2694	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,561	0,773	1,063

Tabla LXVI. Contenido de fósforo determinado en parte aérea. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca x 10. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	0,58	0,71	0,65	0,76	0,77	3,47
II	0,66	0,60	0,64	1,45	0,66	4,01
III	0,68	0,72	0,59	0,64	0,69	3,32
IV	0,56	0,77	0,59	1,29	0,62	3,83
V	0,62	0,50	0,57	1,91	0,73	4,33
Total	3,10	3,30	3,04	6,05	3,47	18,96
Media	0,62	0,66	0,61	1,21	0,69	
%	100	106	98	195	112	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>	
Tratamientos	4	1,2978	0,3244	5,07	4,77	1%**
Repeticiones	4	0,1330	0,0332	0,52		
Error	16	1,0248	0,0640	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,34	0,47	0,64

Tabla LXVII. Contenido en fósforo determinado en la parte aérea. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca x 10. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	0,57	0,60	0,71	0,64	0,77	3,29
II	0,50	0,87	0,73	0,62	0,62	3,34
III	0,82	0,54	0,71	0,59	0,60	3,26
IV	0,57	0,64	0,58	0,68	0,83	3,30
V	0,63	0,62	0,64	0,87	0,69	3,45
Total	3,09	3,27	3,37	3,40	3,51	16,64
Media	0,62	0,65	0,67	0,68	0,70	
%	100	106	109	110	114	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	0,0201	0,0050	0,36	-	
Repeticiones	4	0,0044	0,0011	0,08	-	
Error	16	0,2224	0,0139	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,16	0,22	0,30

Tabla LXVIII. Contenido de potasio determinado en la parte aérea. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	1,85	2,20	2,60	3,40	3,50	13,60
II	2,85	2,05	2,55	4,05	2,85	14,35
III	3,25	2,80	2,25	3,55	3,55	15,60
IV	1,95	2,70	2,60	3,35	2,70	13,30
V	3,35	2,01	3,25	3,20	3,35	15,16
Total	13,25	11,76	13,25	17,60	16,15	72,01
Media	2,65	2,35	2,65	3,50	3,25	
%	100	89	100	133	122	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>de F Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	458,3416	114,5854	5,19	4,77	1% **
Repeticiones	4	77,4016	19,3504	0,87		
Error	16	353,5064	22,0941	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,630	0,868	1,193

Tabla LXIX. Contenido en potasio determinado en la parte aérea. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

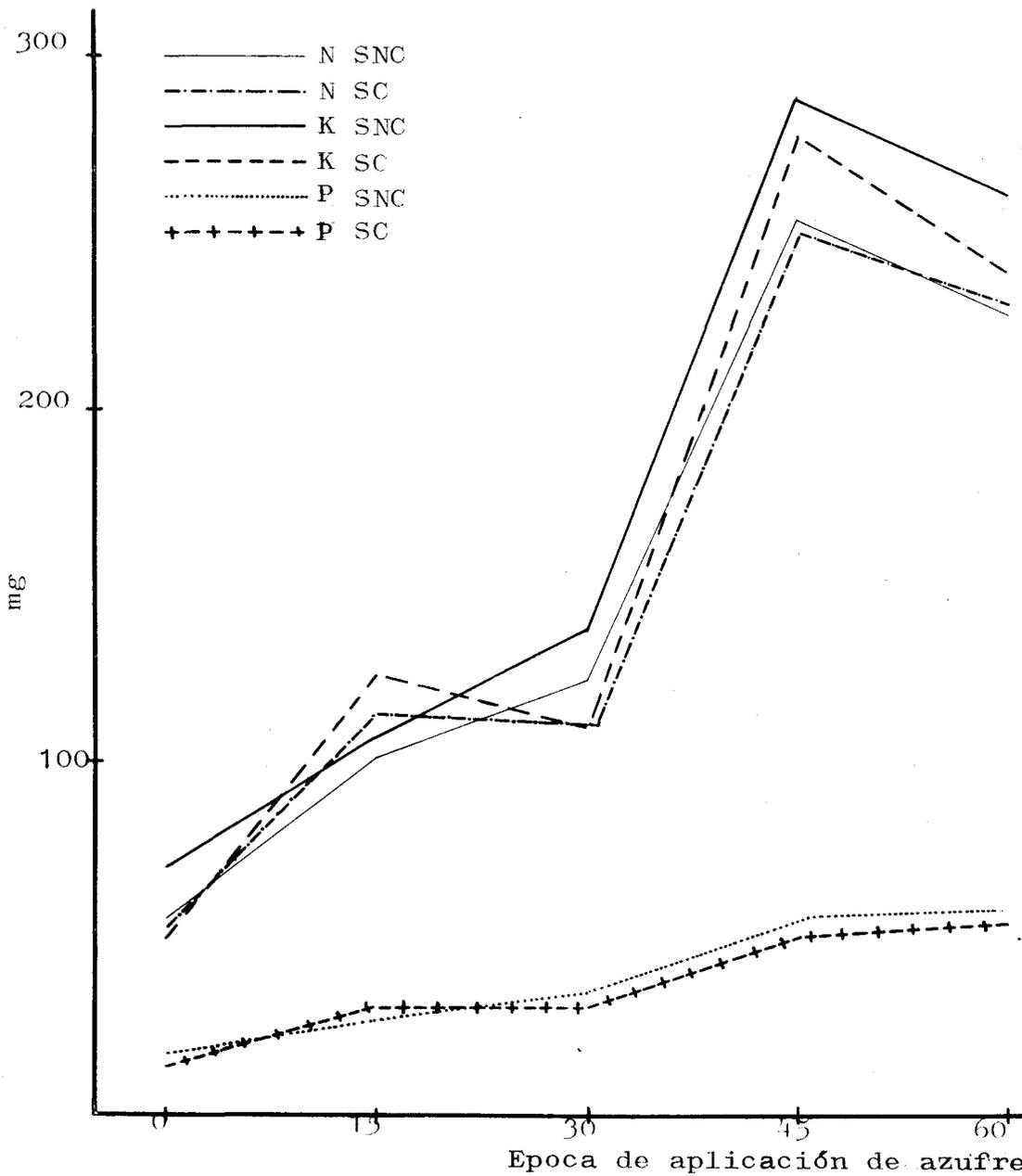
Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	1,90	2,10	2,75	2,85	3,25	12,85
II	1,65	2,95	2,30	2,55	3,25	12,70
III	2,60	3,30	2,45	4,10	3,10	15,55
IV	1,70	3,00	2,30	3,80	3,00	13,80
V	2,05	2,20	2,40	3,80	2,80	13,25
Total	9,90	13,55	12,20	17,10	15,40	68,15
Media	1,58	2,71	2,44	3,42	3,08	
%	100	137	123	173	156	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	622,7600	155,6900	9,05	7,94	0,1% ***
Repeticiones	4	106,6600	26,6650	1,55	2,33	
Error	16	275,1400	17,1962	-		
Total	24					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,556	0,766	1,053



Epoca de aplicación de azufre(dias).
 Fig. 39.-Valores totales de N,P(x10) y K absorbidos por las plantas de rábano en los tratamientos realizados.

Tabla LXX. Clorofila en hoja de rábano, expresada en mg/g de materia seca; diferencia entre los valores correspondientes a plantas crecidas en suelo cubierto (SC) y no cubierto (SNC) y nivel de significación.

Epoca de aplicación (días)	mg/g* (SC)	mg/g* (SNC)	Diferencia	Nivel de significac.
0	7,42±1,70	11,77± 1,50	-4,35	0,5
15	16,76±1,54	23,41± 1,06	-6,65	0,01
30	22,89±1,29	30,16± 2,80	-7,27	0,01
45	38,43±4,30	34,00± 1,44	4,33	NS
60	44,58±4,80	27,70± 1,89	18,88	0,001

* Valores medios de 5 repeticiones.

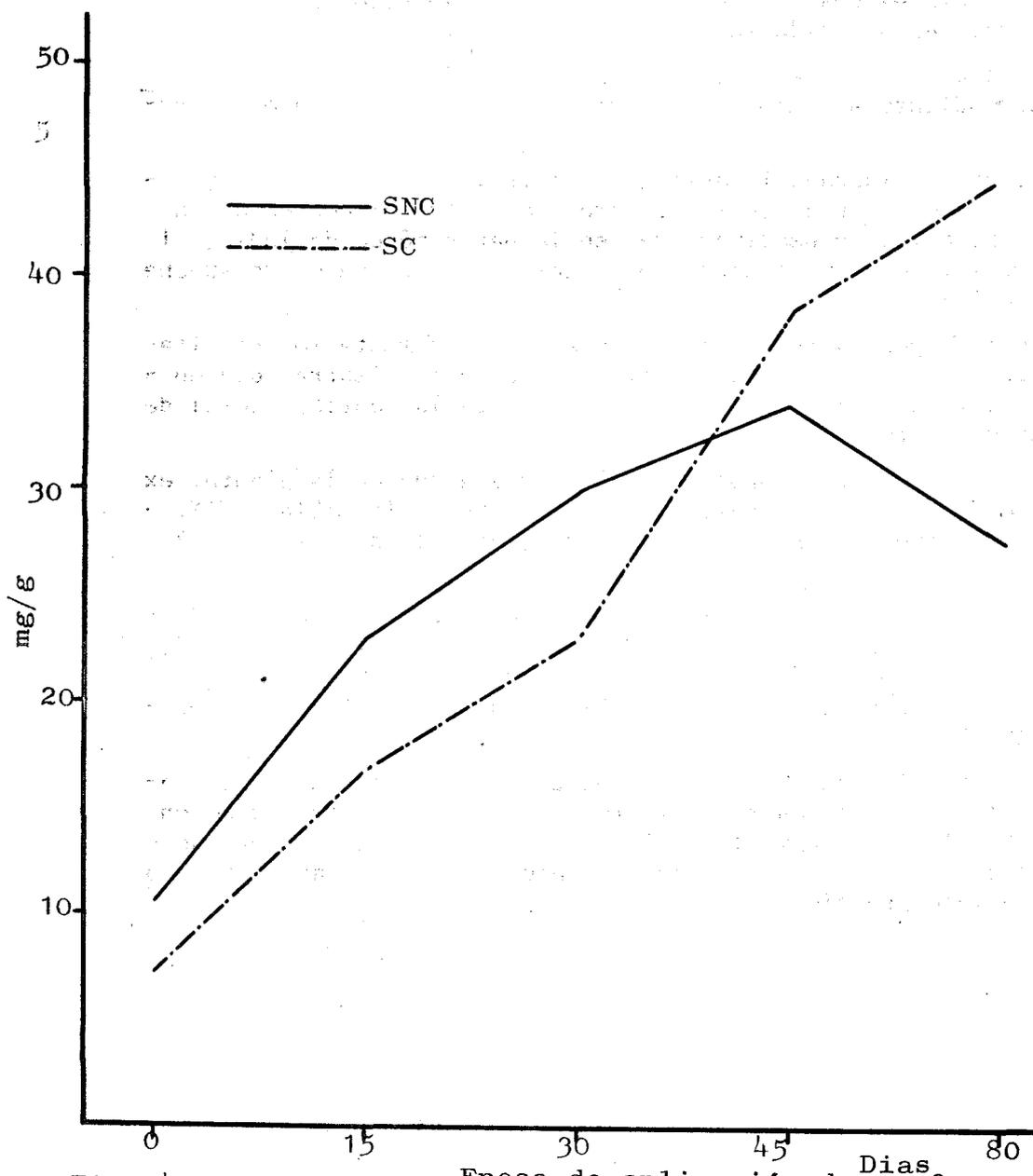


Fig. 40.- Contenido en clórofila obtenida en la parte aérea del rábano en los tratamientos realizados.

2.2.3.2. En judía.

En las tablas LXXI, LXXII, LXXIII, LXXIV, LXXV y LXXVI son expuestos los resultados correspondientes al contenido, concentración, en nitrógeno, fósforo y potasio obtenidos en las determinaciones realizadas en la parte aérea de judía. Los tres elementos vienen expresados en tanto por ciento, peso seco, salvo el fósforo cuyos valores han sido multiplicados por 10.

De cada dos tablas, la primera corresponde a la planta de judía correspondiente a suelo no cubierto y la segunda a suelo cubierto.

Se ha considerado interesante añadir las tablas LXXVII y LXXVIII en las que se exponen las diferencias entre el contenido en nitrógeno y potasio, respectivamente, en la parte aérea de judía, el nivel de significación y el tanto por ciento de incremento que supone esta diferencia.

En la figura 41 se han representado gráficamente los resultados obtenidos en cuanto a concentración se refiere, mientras que en la siguiente, figura 42, se ha tenido en cuenta la cantidad total de cada elemento absorbido por la planta.

El contenido de clorofila en la parte aérea de la planta, expresado en mg/g de muestra, peso seco, se expone en la tabla LXXIX. Para mayor claridad se han representado gráficamente en la figura 43, los valores de la tabla anterior.

En las tablas LXXX y LXXXI, se han expuesto los valores de azufre obtenidos, expresados en tanto por ciento, en planta de judía, crecidas en suelo no cubierto y cubierto, respectivamente, así como los valores totales de este elemento absorbido por la planta en los dos lotes que han sido encuadrados en la tabla LXXXII.

El contenido en algunos aminoácidos, obtenidos en brote, peso seco, para los distintos tratamientos realizados, se encuadran en la tabla LXXXIII. Se subraya la metionina, ya que además de ser uno de los aminoácidos esenciales es considerado por algunos autores como índice de calidad proteica.

Tabla LXXI. Contenido de nitrógeno determinado en brote de judía. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	0,980	2,800	2,674	3,290	3,090	12,8340
II	1,274	1,792	3,804	2,912	3,556	13,3380
III	1,582	1,526	3,818	3,682	2,856	13,4640
Total	3,836	6,118	10,296	9,884	9,502	39,6360
Media	1,278	2,039	3,432	3,295	3,167	
%	100	159	268	258	248	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Valores de F Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	10,6438	2,6609	8,68	7,01	1% **
Repeticiones	2	0,0444	0,0222	0,07	4,46	
Error	8	2,4521	0,3065	-		
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	1,042	1,516	2,278

Tabla LXXII. Contenido de nitrógeno determinado en brote de judía.-
Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca.-
Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	1,344	1,666	2,170	3,766	3,192	12,138
II	1,174	1,944	2,618	2,800	3,752	12,288
III	1,498	1,750	2,884	2,660	2,814	11,606
Total	4,016	5,360	7,672	9,226	9,758	36,032
Media	1,339	1,787	2,557	3,075	3,253	
%	100	133	191	230	243	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	8,1313	2,0328	11,05	7,01	1% **
Repeticiones	2	0,0514	0,0257	0,14		
Error	8	1,4726	0,1840			
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,807	1,174	1,765

Tabla LXXIII. Contenido de fósforo determinado en brote de judía. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca x 10. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	0,350	0,270	0,510	0,310	0,400	1,840
II	0,490	0,400	0,520	0,380	0,490	2,280
III	0,520	0,420	0,440	0,450	0,500	2,330
Total	1,360	1,090	1,470	1,140	1,390	6,450
Media	0,453	0,363	0,490	0,380	0,463	
%	100	80	108	84	102	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	0,0366	0,0091	3,84	3,84	5% *
Repeticiones	2	0,0290	0,0145	5,80	4,46	5% *
Error	8	0,0204	0,0025	-		
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,092	0,134	0,202

Tabla LXXIV. Contenido de fósforo determinado en brote de judía. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca x 10. Ensayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	0,490	0,450	0,520	0,430	0,380	2,270
II	0,490	0,410	0,510	0,590	0,410	2,410
III	0,590	0,380	0,460	0,500	0,500	2,430
Total	1,570	1,240	1,490	1,520	1,290	7,110
Media	0,523	0,413	0,497	0,506	0,430	
%	100	79	95	97	82	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>de F Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	0,0289	0,0072	2,00	3,84	NS
Repeticiones	2	0,0030	0,0015	0,41	-	-
Error	8	0,0289	0,0036	-		
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,112	0,164	0,246

Tabla LXXV. Contenido de potasio determinado en brote de judía. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca. Ensayo correspondiente a suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	1	2	3	4	5	
I	1,250	1,250	2,750	2,650	3,400	11,300
II	1,850	1,600	2,600	2,600	2,950	11,600
III	1,200	1,600	2,850	3,300	3,050	12,000
Total	4,300	4,450	8,200	8,550	9,400	34,900
Media	1,433	1,483	2,733	2,850	3,133	
%	100	103	191	199	219	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	779,7667	194,9416	21,01	14,39	0,1% ***
Repeticiones	2	4,9334	2,4667	0,26	-	
Error	8	74,2333	9,2791			
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,573	0,834	1,254

Tabla LXXVI. Contenido de potasio determinado en brote de judía. Expresado en gramos de elemento/100 g de materia seca. En En sayo correspondiente a suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	1,450	1,550	1,900	2,650	2,650	10,200
II	1,350	1,500	2,350	2,600	2,800	10,600
III	1,250	1,600	2,400	2,300	2,600	10,150
Total	4,050	4,650	6,650	7,550	8,050	30,950
Media	1,350	1,550	2,216	2,516	2,683	
%	100	115	164	186	199	

b) Análisis de la varianza.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valores de F Calcul.	Real	Niveles de probabilidad
Tratamientos	4	415,7334	103,9333	33,84	14,39	0,1% ***
Repeticiones	2	2,4334	1,2167	0,40	-	-
Error	8	24,5666	3,0708	-	-	-
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,330	0,480	0,721

Tabla LXXVII. Diferencia entre los valores del contenido en nitrógeno (expresado en tanto por ciento) en la parte aérea de la planta de judía, crecida en suelo no cubierto (SNC) y - cubierto (SC).

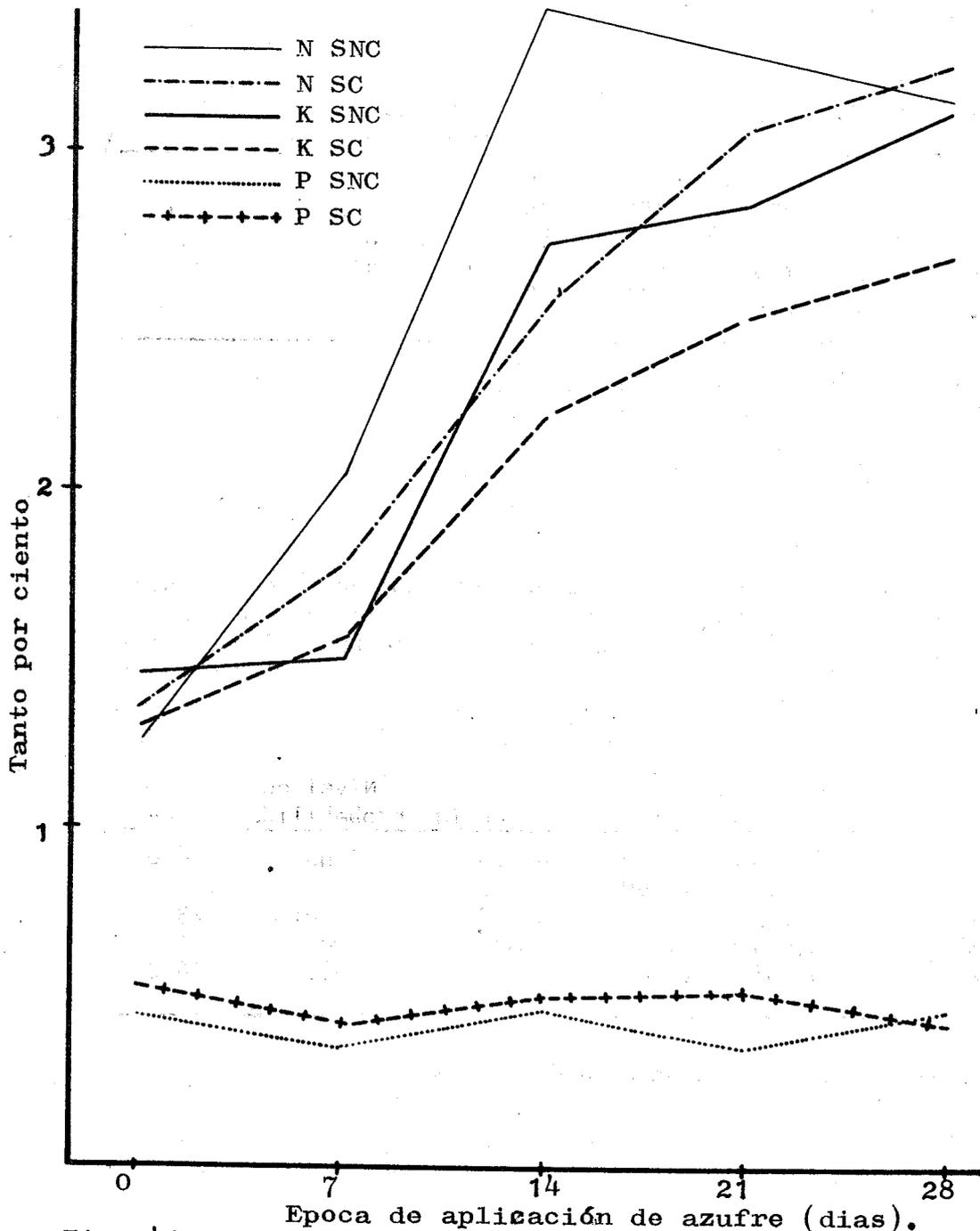
Epoca de aplicación (días)	SNC	SC	Diferencia	Nivel de probabilidad	%*
0	1,178	1,339	-0,061	-	-
7	2,039	1,787	0,252	NS	14,1
14	3,432	2,557	0,875	0,1	34,2
21	3,295	3,075	0,220	NS	7,1
28	3,167	3,253	-0,186	-	-

* % de incremento que supone esta diferencia.

Tabla LXXVIII. Diferencia entre los valores del contenido en potasio (expresados en tanto por ciento) en la parte aérea de la planta de judía, crecida en suelo no cubierto (SNC) y cubierto (SC).

Epoca de aplicación (días)	SNC	SC	Diferencia	Nivel de probabilidad	%*
0	1,433	1,350	0,083	NS	6,0
7	1,483	1,550	-0,067	-	-
14	2,733	2,216	0,517	0,01	23,3
21	2,850	2,516	0,334	NS	13,3
28	3,133	2,683	0,450	0,01	16,8

* % de incremento que supone esta diferencia.



Fig, 41.- Concentraciones medias de N, P(x10) y K obtenidas en parte aérea de judía, en los tratamientos realizados.

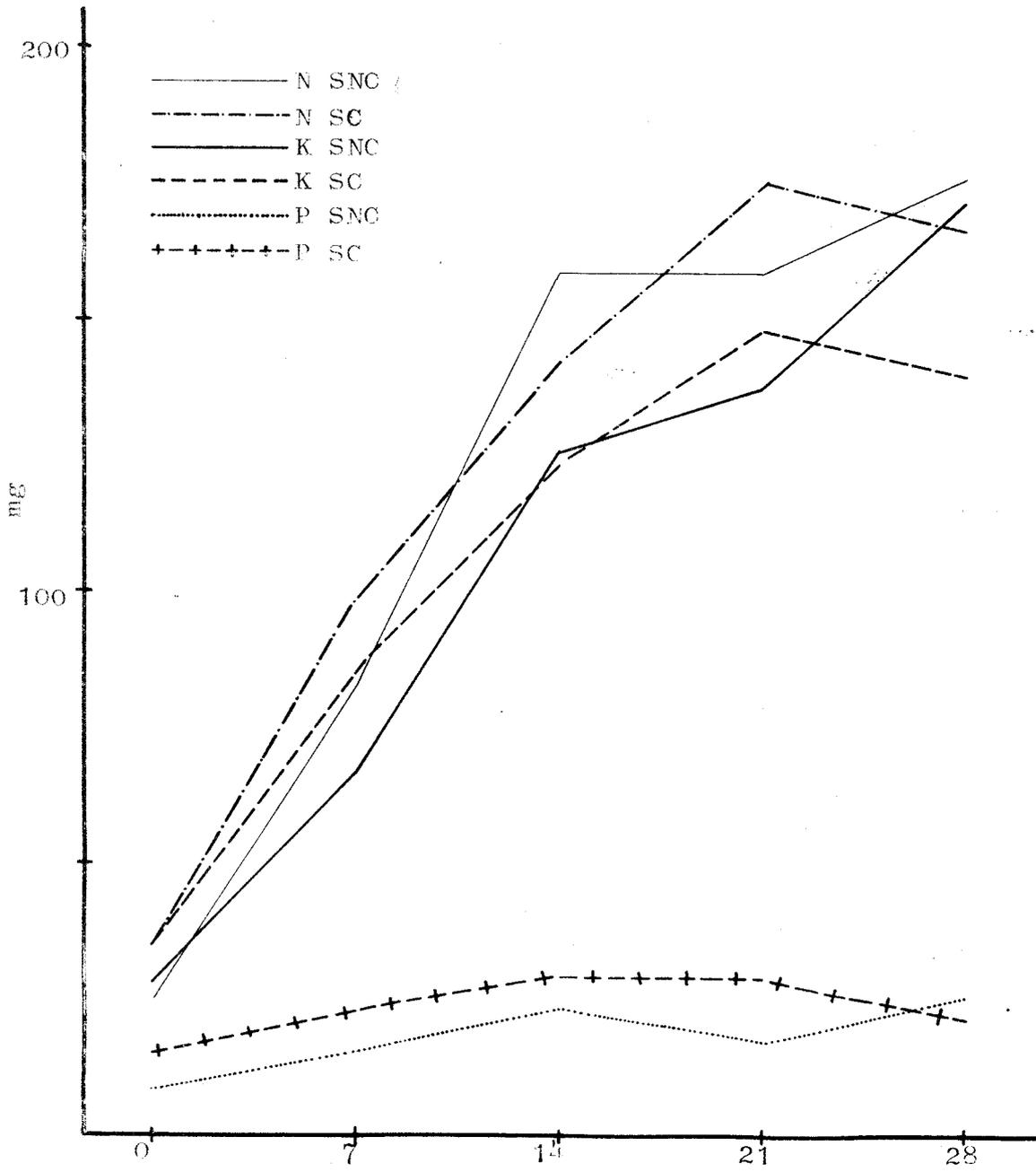


Fig. 12.- Valores totales de N, P(x10) y K absorbido por las plantas de judía, en los tratamientos realizados.

Tabla LXXIX. Clorofila en hoja de judía, expresada en mg/g de materia seca, diferencia entre los valores correspondientes a plantas crecidas en suelo cubierto (SC) y no cubierto (SNC) y nivel de significación.

Epoca de aplicación (días)	mg/g*(SC)	mg/g*(SNC)	Diferencia	Nivel de significación
0	11,71 ± 0,38	39,10 ± 3,8	-27,39	0,0001
7	45,55 ± 0,19	45,30 ± 1,4	0,15	NS
14	51,22 ± 7,20	48,49 ± 4,7	2,73	NS
21	69,69 ± 1,19	56,10 ± 3,9	13,59	0,01
28	83,16 ± 8,40	56,00 ± 1,9	27,16	0,01

* Valores medios de cuatro repeticiones.

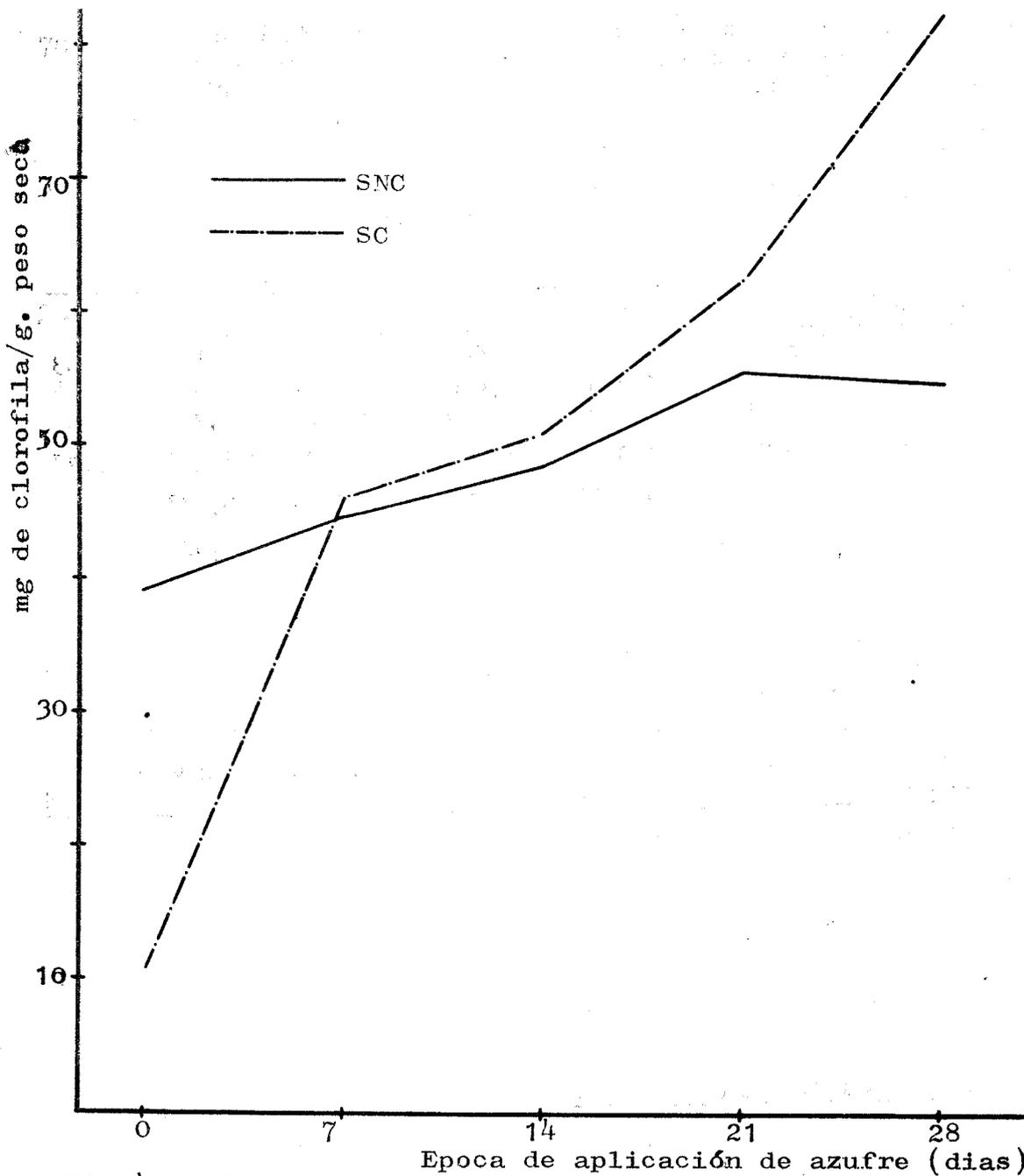


Fig.43.- Contenido en clorofila obtenida en la parte aérea de judía, en los tratamientos realizados.

Tabla LXXX. Contenido de azufre en la parte aérea de la planta de --
judía, expresado en tanto por ciento, peso seco, en expe
riencias realizadas en suelo no cubierto (SNC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣReptic.
	1	2	3	4	5	
I	0,330	0,320	0,360	0,380	0,440	1,83
II	0,260	0,380	0,420	0,400	0,380	1,84
III	0,260	0,340	0,320	0,400	0,480	1,80
Total	0,850	1,040	1,060	1,180	1,300	5,47
Media	0,2833	0,3466	0,3533	0,3933	0,4333	
%	100	122	125	134	153	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F</u>	<u>de F</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
				<u>Calcul.</u>	<u>Real</u>	
Tratamientos	4	0,1226	0,0306	3,82	3,84	5% *
Repeticiones	2	0,0522	0,0261	3,26	-	
Error	8	0,0644	0,0080	-	-	
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,1678	0,2442	0,3669

Tabla LXXXI. Contenido de azufre en la parte aérea de la planta de --
judía, expresado en tanto por ciento, peso seco, en expe--
riencias realizadas en suelo cubierto (SC).

a) Valores absolutos.

Repeticiones	Tratamientos					ΣRepetic.
	6	7	8	9	10	
I	0,260	0,270	0,320	0,410	0,480	1,740
II	0,310	0,260	0,360	0,380	0,740	2,050
III	0,410	0,530	0,460	0,440	0,520	2,360
Total	0,980	1,060	1,140	1,230	1,740	6,150
Media	0,3266	0,3533	0,3800	0,407	0,5800	
%	100	108	116	125	177	

b) Análisis de la varianza.

<u>Fuentes de variación</u>	<u>Grados de libertad</u>	<u>Suma de cuadrados</u>	<u>Cuadrado medio</u>	<u>Valores de F Calcul.</u>	<u>de F Real</u>	<u>Niveles de probabilidad</u>
Tratamientos	4	0,0377	0,0094	4,48	3,84	5% *
Repeticiones	2	0,0003	0,0001	0,04	-	
Error	8	0,0169	0,0021	-	-	
Total	14					

c) Mínimas diferencias significativas (M.D.S.)

Probabilidad	<u>0,05</u>	<u>0,01</u>	<u>0,001</u>
Tratamientos	0,0864	0,1254	0,1885

Tabla LXXXII. Contenido total de azufre absorbido por la planta de ju_u día, expresado en mg de elemento por maceta.

Epoca de aplicación de S (días)	mg* de S (SC)	mg* de S (SNC)	Diferencia	Nivel de signific.
0	9,188 ± 1,05	5,331 ± 0,50	3,857	0,01
7	19,298 ± 4,70	13,976 ± 0,14	5,288	0,1
14	25,819 ± 4,50	16,218 ± 0,90	9,601	NS
21	23,066 ± 1,08	18,842 ± 0,70	4,229	0,01
28	35,380 ± 4,40	23,934 ± 2,00	11,446	0,05

*Valores medios de 3 repeticiones.

Tabla LXXXII. Contenido en algunos aminoácidos, en hojas de judía, correspondientes a cada tratamiento realizado, expresado en $\mu\text{M/g}$ brote peso seco.

Suelo no cubierto: Tratamientos					
	1	2	3	4	5
Lisina	30,70	71,44	116,34	82,23	80,76
Histidina	11,57	28,75	45,109	32,94	31,96
Ac. Aspartico	48,34	187,54	259,89	185,87	247,74
Treonina	23,63	60,07	101,29	68,35	68,36
Serina	26,59	60,30	103,92	66,40	71,76
Ac. glutámico	43,62	116,19	188,15	132,74	131,36
Prolina	27,44	71,29	110,44	93,43	99,49
Glicocola	44,66	111,70	182,95	128,59	123,76
Alanina	41,32	109,57	176,12	122,65	122,52
Valina	36,19	89,42	147,07	105,61	103,05
Metionina	2,39	5,51	8,36	6,16	5,73
Isoleucina	24,65	62,48	101,89	71,25	69,53
Leucina	42,84	109,06	180,38	124,60	121,52

Suelo cubierto: Tratamientos					
	6	7	8	9	10
Lisina	28,91	34,85	34,46	65,50	73,65
Histidina	10,77	12,66	13,78	26,98	29,14
Ac. Aspartico	48,37	67,39	60,87	197,94	285,10
Treonina	25,67	28,80	28,95	54,29	60,84
Serina	30,79	30,23	30,33	54,97	64,60
Ac. glutámico	46,69	54,58	54,58	104,77	120,58
Prolina	31,20	38,69	52,44	87,44	59,90
Glicocola	46,68	54,50	55,25	102,98	109,91
Alanina	43,10	51,02	51,70	99,98	110,91
Valina	35,07	42,37	41,49	78,63	85,77
Metionina	2,99	3,80	5,50	7,39	6,90
Isoleucina	24,48	30,30	30,43	56,69	61,14
Leucina	43,68	52,70	53,20	98,45	104,67

2.3. Experiencia tipo C.

Los resultados obtenidos en este tipo de experiencias, referentes a peso fresco y seco tanto en la parte aérea de la planta como en el fruto, así como la evolución seguida en la floración y fructificación, no se ha considerado necesario exponerlos ya que las tendencias seguidas en todos estos parámetros o determinaciones fisiológicas que se han practicado -similares a las experiencias tipo B-, han sido todos ellos semejantes, evolucionando de igual manera.

Datos de interés en esta experiencia ha sido la determinación del número de nódulos por planta y peso seco, expresado en mg, aparecidos en las raíces de las plantas inoculadas y han sido encuadrados en la tabla LXXXIV, y la representación gráfica del número de ellos en la figura 44.

Tabla LXXXIV. Número y peso seco, expresado en mg, de los nódulos formados en las raíces de judía (una planta).

Epoca de aplicación (días)	Suelo no cubierto (SNC)		Suelo cubierto (SC)	
	Número	mg	Número	mg
0	177 ± 15,1	70,1 ± 4,7	147 ± 15	44,6±10
7	187 ± 9,5	73,9 ±10,9	118 ± 10	35,7± 3,3
14	229 ± 21,5	75,9 ± 6,7	113 ± 7,5	43,9± 8,1
21	129 ± 4	58,6 ± 6,5	64 ± 9	39,7± 4,3
28	105 ± 9	56,2 ± 3,7	56 ± 9	35,0± 7

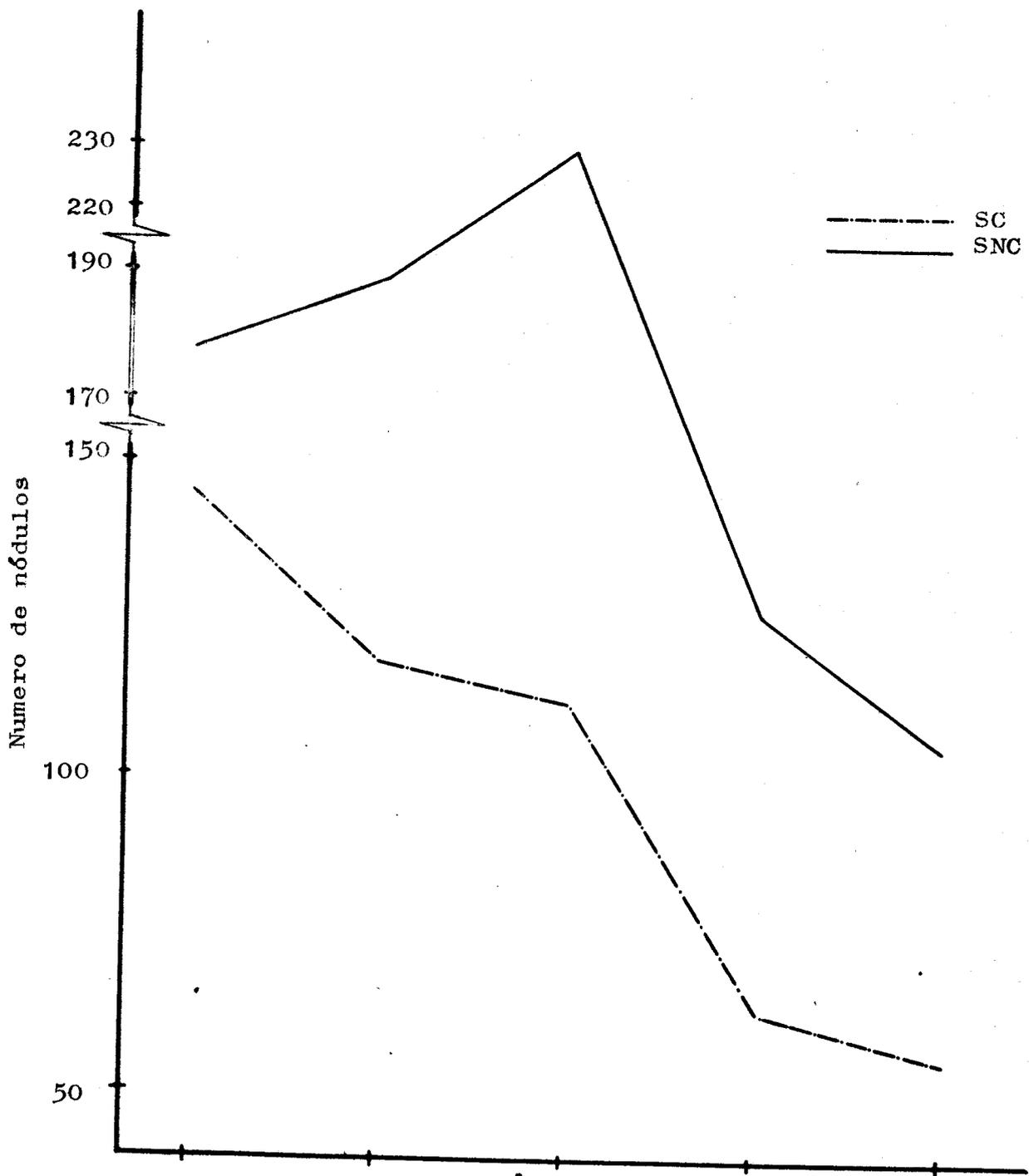


Fig.- 44 Números de nódulos determinados en cada tratamiento realizado.

D I S C U S S I O N

... DISCUSION ...

En los resultados correspondientes a las experiencias de incubación es posible observar, en relación con la microflora oxidante, el contenido tan diferente de este tipo de microorganismos en los suelos estudiados. El objeto de esta experiencia, como ya quedó indicado, fué la elección de un tipo de suelo con una buena respuesta microbiana a la adición de azufre.

De los datos que se muestran en la tabla VI y que son reflejados en la gráfica de la figura 3, es posible observar que hay una evolución de la microflora paralela en todos los suelos, siendo el nivel alcanzado en las distintas tomas de muestras diferente según el tipo de suelo, pero apreciándose los máximos y los mínimos hacia la misma época del periodo de incubación, de la segunda a la cuarta semana.

Las tendencias seguidas por estas gráficas, son comunes a las que presentan las correspondientes a recuentos realizados sobre microflora total ó cualquier clase de microorganismos en experiencias de incubación. La forma normal de evolución presenta dos máximos, uno muy próximo al comienzo de la incubación y otro bastante mayor que ocurre generalmente entre la segunda y tercera semana, aunque a veces se desplaza hasta la cuarta. Después viene una estabilización por tiempo indeterminado. El primer máximo, más apreciable en unos que en otros suelos de los ensayos, es el que se debe al menos casi se debe a la acción descrita por Stevenson (1956) y Birchall (1958, 1959, y 1960), de la rápida proliferación microbiana que ocurre en un suelo desecado cuando es rehumedecido.

Si un suelo se rehumedece hay una rápida explosión de actividad microbiana que hacia los diez días tiene que cesar. Parece ser que este hecho está condicionado por el estado en que se encuentra el humus del suelo. El humus no es microbiano propiamente inatacable pero se hace resistente cuando se encuentra adsorbido sobre la superficie de algunos minerales de la arcilla (Williams, et al., 1958). Este comportamiento es prácticamente universal para microorganismos y suelos y se manifiesta de distinta manera en

los ensayados en este estudio, de acuerdo con el grado de humedad que contenían al principio y al tiempo transcurrido en el laboratorio desde su recogida en el campo. El máximo corresponde ya a cuando se han establecido las condiciones nutritivas ó energéticas óptimas para el desarrollo de la microflora objeto de estudio.

La distinta actividad sulfooxidante registrada en los diferentes suelos, ha sido correlacionada con algunas características de estos que explicara tal comportamiento.

En el apartado 1.1, correspondiente a Material y Métodos, se dispusieron las características físicas y químicas principales de los suelos utilizados, muy distintos como se pueden apreciar, especialmente en el contenido de azufre asimilable, que oscila entre 0,79 y 100 mg/100g de suelo y en la cantidad de materia orgánica, que difiere considerablemente, aunque dentro de un intervalo más pequeño (0,94-2,08 g/100g de suelo). (apartado 2.1.2.1 de material y met.)

Si se intenta obtener alguna conclusión de la comparación o enfrentamiento entre la actividad sulfooxidante normal de los suelos y al contenido en azufre asimilable, se deduce que, no existe correlación alguna, ya que suelos con bajo contenido en azufre presentan una baja cifra de microorganismos sulfooxidantes hecho que también ocurre en los que contienen niveles altos del elemento en condiciones de utilización.

Si se estudia detenidamente la tabla V y la gráfica expuesta en la figura 4, correspondientes ambas al contenido en bacterias sulfatorreductoras, se observa una evolución a lo largo del periodo de incubación muy similar a la que ocurre en el caso de los sulfooxidantes, coincidiendo los niveles máximos para cada suelo y prácticamente para la misma toma de muestra.

El valor considerado en la determinación analítica de azufre asimilable corresponde a su máximo grado de oxidación, sulfato, que es la forma química de absorción por las raíces de las plantas. Se ve perfectamente que tampoco la cifra del elemento asimilable se puede correlacionar con el número de sulfatorreductores, dependiendo, por lo tanto, uno y otro tipo de bacterias del ciclo del azufre de otro factor presente en los suelos estudiados distintos al azufre.

Si se considera el contenido en materia orgánica del suelo, ya se ve algo más de luz. Como quedó indicado en la introducción (Kelly, 1972) la mayor parte del azufre disponible, aunque no directamente asimilable en el suelo, lo es en forma orgánica, constituyendo parte de los residuos animales ó vegetales más o menos evolucionados que en él se encuentran presentes. En esta materia orgánica, un porcentaje considerable de azufre, corresponde a forma reducida y constituye, cuando el suelo se encuentra en condiciones óptimas de humedad y temperatura, la materia prima para que se desarrolle la microflora sulfooxidante una vez que ha sido liberada de su forma orgánica por los microorganismos, llamados globalmente, no sin falta de error de la putrefacción.

De acuerdo con esto parece existir una relación aparente, aunque no exacta, entre el contenido en microflora oxidante del azufre y la cantidad de materia orgánica presente en el suelo. La determinación de la evolución de dicha materia orgánica a lo largo del periodo de incubación, confirma, no solo la marcha seguida por los sulfooxidantes, sino también el hecho ya referido sobre la rápida proliferación microbiana que sigue a la disposición del suelo en un ambiente adecuado.

Como se observa en la figura 2, mas claramente que en la correspondiente a la tabla II, la cantidad de materia orgánica en el suelo, sufre una rápida caída de la que se recupera, consiguiendo un máximo más o menos coincidente con el apreciado en la evolución microbiana, para luego tender a una estabilización con el tiempo.

Es posible, en relación con la observación sobre las diferentes cantidades de materia orgánica a lo largo del periodo de incubación, que la disminución que ocurre al comienzo no sea tan aguda en la realidad, sino que se manifieste así por la naturaleza del método analítico seguido, basado en la oxidación con dicromato potásico en medio sulfúrico concentrado.

Todo lo anteriormente expuesto sobre la microflora sulfooxidante, puede ser sin error, transportado o aplicado a los microorganismos sulfarreductores cuyo contenido corre en todo momento paralelo al de aquellos. En las condiciones bajo las que se dispone el suelo a incubar, la significación de la microflora reductora de los sulfatos no

es alta, como puede en la práctica comprobarse o deducirse de la tabla V y de su representación gráfica, figura 4. No obstante este paralelismo debido probablemente, bien a la anaerobiosis existente en el interior de pequeños grumos de suelo o de la existencia conjunta de microorganismos intensamente oxidantes, que crean una competencia clara por el oxígeno, no es privativo de este tipo de organismos, sino que se manifiesta con iguales características en otros grupos microbianos, desnitrificantes, por ejemplo, siendo ello un índice de activación microbiana como Barjac (1954) considera a estos últimos.

Considerando el contenido de materia orgánica en el suelo como posible factor aparente que condiciona el desarrollo de la microflora del azufre en las experiencias realizadas y de acuerdo con los resultados obtenidos, se creyó de interés la adición antes de la incubación, de una determinada cantidad de materia orgánica de buena calidad y de evolución media para intentar llevar los suelos ensayados a un nivel en este componente suficientemente alto para igualar sus defectos. Ante el desconocimiento del estado de degradación y por lo tanto de disponibilidad de la materia orgánica natural, era difícil completar con un determinado estiércol o compost hasta un nivel preestablecido que hubiera sido lo lógico y exacto.

Los resultados sobre contenido de microflora oxidante y sulfatorreductora expuestos en las tablas VI y VII, referentes a las determinaciones realizadas sobre suelos incubados con adición de materia orgánica, muestran un incremento considerable del número de bacterias en todos los suelos pero siguiendo una evolución paralela a la manifestada en la incubación sin adición de materia orgánica, lo que confirma que la materia orgánica de por sí no es la única causa del diferente comportamiento de los distintos tipos de suelos.

El señalado como número IV presenta mayor actividad seguido por III, II, I y V.

Ya que el objeto de estas experiencias era conseguir un criterio para elegir el suelo ideal para las pruebas de invernadero, se procedió como quedó descrito anteriormente, a incubar los distintos tipos de suelos con una cantidad de azufre proporcional a la que se recomienda en los

ensayos de campo. Los resultados obtenidos, expuestos en las tablas VIII y IX correspondientes a sulfooxidantes y sulfatorreductores respectivamente, varían ligeramente en relación con la respuesta obtenida cuando se realiza la incubación con materia orgánica.

La evolución de los dos tipos microbianos es similar a la obtenida en los casos anteriores, aunque el número de microorganismos se multiplica aproximadamente por 10 si se comparan las cifras correspondientes a los suelos incubados con adición de materia orgánica y por 100 sobre los incubados solos, teniendo en cuenta los sulfooxidantes,

Una última serie de incubaciones se realizó con la adición de azufre y materia orgánica conjuntamente a los distintos tipos de suelo. El fin de estas experiencias era conocer el comportamiento del suelo o mejor dicho, la respuesta del mismo, bajo las condiciones de experimentación. En las experiencias con plantas, al tener previsto el estudio de la microflora amonificante y nitrificante además de la del azufre, se adicionó al suelo, materia orgánica como substrato de estos microorganismos del ciclo del nitrógeno.

Los resultados obtenidos, tablas X y XI, para sulfooxidantes y sulfatorreductores respectivamente, se aprecia una evolución normal a lo largo del periodo de incubación y unos valores intermedios entre los encontrados para suelos con adición de azufre y suelos con adición de materia orgánica.

De las tablas XII y XVI y mejor de las figuras 5 a la 9 donde se han agrupado por suelos los resultados obtenidos en las distintas variantes, se deduce que la adición de materia orgánica al suelo, hace disminuir el efecto del azufre que se añade a la vez. El fenómeno es común para los cinco tipos de suelos estudiados y la explicación de estos resultados, es difícil, ya que lo que cabría esperar es / que el uso conjunto de ambos aditivos dieran lugar a un efecto acumulativo sobre la microflora del azufre. El suelo número V, se comporta como excepción al conseguir, cuando hay materia orgánica y azufre, un nivel de actividad sulfooxidante superior, aunque ligero, a cuando está presente este último solo.

No deja de resultar tambien curioso, el hecho de que el máximo de actividad sulfooxidante se dá con un retraso de dos o tres semanas sobre el pico que aparece con azufre solo. Esto es, la presencia de materia orgánica retrasa el desarrollo de las bacterias del azufre independientemente de la inhibición a que dá lugar sobre la manifestación máxima de la actividad microbiana oxidante de este elemento.

Dada la falta de datos en la bibliografía se ha pensado que, posiblemente se deba tal efecto al desequilibrio originado por la adición de materia orgánica sobre la microflora natural del suelo, creando unas condiciones no adecuadas para el desarrollo de las bacterias sulfooxidantes controladas. No puede interpretarse por el hecho de una relación C/S excesivamente alta, pues del mismo nivel o incluso superior es la obtenida por la única adición de materia orgánica al suelo, que como se aprecia en todos ellos origina un incremento en la microflora oxidante del azufre.

A la vista de estos datos presentados y discutidos, se ha creído necesario para conseguir una valoración ideal sobre la respuesta de la microflora del azufre a la adición del elemento, establecer la relación existente entre el número de microorganismos sulfooxidantes y sulfatorreductores encontrados en suelos incubados con o sin adición de azufre. La tabla XVII muestra la relación correspondiente a sulfooxidantes y la XVIII a sulfatorreductores. Los resultados expuestos en la primera, tambien se han representado graficamente en la figura 10 y de la observación de dichos valores se aprecia que el suelo número II es el que dá una respuesta mas amplia y prolongada a la adición de azufre, por lo que ha sido el escogido para la realización de las experiencias de invernadero con plantas.

Tambien se ha tenido en cuenta en esta elección que se trate de un suelo de bajo contenido en azufre asimilable (2,61 mg/g de suelo) de un contenido medio de materia orgánica (1,58 g/100g de suelo), y una fertilidad bajo la cual es útil para exagerar más los efectos que se han querido poner en evidencia.

La experiencia realizada según el tipo llamado A no dió resultados fisiológicos significativos, por lo que fué necesario la programación de experiencias con tratamientos de azufre acumulativos en lugar de realizar uno solo en

diferentes periodos de crecimiento, como en el mencionado tipo de experiencias en diferentes estados de crecimiento de las plantas.

En las tablas XIX y XX correspondientes a bacterias sulfooxidantes y sulfatorreductoras y de la figura 11 y 12 se observa una evolución similar a la ya descrita en el lote correspondiente a suelo cubierto con un máximo en el contenido microbiano hacia la tercera-cuarta semana de la experiencia. En los suelos donde se ha permitido caer el azufre, se aprecia una respuesta inmediata, en la siguiente toma de muestra, con un máximo de actividad microbiana dos ó tres semanas mas tarde para comenzar a decrecer. Se observa que el máximo va siendo mayor conforme la época del tratamiento se acerca mas al máximo natural que es apreciado en los suelos cubiertos.

Sin embargo la actividad amonificante expuesta en las tablas XXI a XXVI cuyos resultados se resumen en la XXVII muestra una clara tendencia a disminuir a lo largo del tiempo de la experiencia a pesar de existir una buena cantidad de materia orgánica y unas condiciones ideales de humedad y temperatura.

En relación con la actividad nitrificante en sus dos grados nitrosa y nitrica, se aprecia un incremento gradual en el número de bacterias consecuente al tratamiento con azufre. Posiblemente pocas semanas despues de terminada la experiencia de los nitrosos, la cifra de microorganismos vuelva a la normalidad. En el caso de los nitrificantes nitricos la normalidad se recupere dentro del periodo de la experiencia.

Este comportamiento observado por los amonificantes y los nitrifintes, o no se ha encontrado en la bibliografía consultada, caso de los amonificantes, o no coincide por los datos dados por autores anteriores quienes informan sobre la inhibición de la actividad nitrificante por el ejemplo del azufre como fertilizante (Hirabachashi, et al., 1967, Blasco y Cornfield, 1971).

Los autores citados no suministran datos suficientes sobre los suelos utilizados en sus experiencias, pues posiblemente este fenómeno no sea general, o por lo menos, para así considerarlo, seria necesario el estudio del com

miento de la microflora nitrificante en una amplia y representativa gama de suelos. No obstante puede considerarse interesante el dato de que un suelo de unas características definidas se den los hechos descritos. Estos resultados serán confirmados por los obtenidos de los análisis microbiológicos correspondientes a las experiencias de tipo B.

De las determinaciones fisiológicas de las experiencias tipo A, se deduce claramente la ausencia de efecto en los tratamientos con azufre, tanto de las plantas crecidas en suelo no cubierto como cubierto y cualquiera que sea la época de pulverización.

Se ha considerado en las experiencias con plantas, el tratamiento primero, tanto del lote cubierto como no cubierto, como 100 para conocer las diferencias entre este y los otros tratamientos, ya que al ser en esta época de aplicación las plantas muy pequeñas pueden considerarse prácticamente como testigos de cada lote.

Como se aprecia en las tablas XXX y XXXI correspondientes a peso fresco de la parte aérea de judía y en las XXXII y XXXIII a floración y fructificación no hay diferencia apreciable entre los tratamientos entre sí y entre los lotes de suelo cubierto y no cubierto. No se ha aplicado tratamiento estadístico entre ambos lotes ya que la falta de diferencias entre los elementos de comparación es tan patente que huelga todo cálculo estadístico.

Sin embargo prestando atención a las tablas XXXII y XXXIII, se puede apreciar sin gran esfuerzo, que tanto las plantas crecidas en suelo cubierto como en no cubierto, manifiestan en los tratamientos intermedios, no solo un ligero incremento en el número de flores y frutos, sino también una precocidad patente especialmente en los 2º y 3º tratamientos de ambas series (tratamientos 2, 3, 7 y 8). En suelo cubierto se presenta el efecto más acusado que en el no cubierto. Hay que tener en cuenta que el tratamiento número 4 y 9 coinciden con la floración, por lo que el efecto no es tan patente, lo mismo los tratamientos 5 y 10 que coinciden con la fructificación.

La marcha de la experiencia de tipo A, tanto desde el punto microbiológico como fisiológico, dió lugar a un replantamiento de la forma de llevar a cabo la experimenta--

ción con plantas a realizar a continuación. El cambio introducido, aparte de utilizar dos especies vegetales, se ha materializado en la forma de llevar a cabo los tratamientos con azufre, realizando pulverizaciones acumulativas en lugar de una sola a tiempos distintos del crecimiento de las plantas, del modo que ha sido expuesto en el punto correspondiente del capítulo del material y métodos.

Los resultados correspondientes a las determinaciones microbiológicas en este tipo de experiencias a partir de la tabla XXXIV. En ella se muestran los datos correspondientes al número más probable de sulfooxidantes hallados en cada toma de muestra a lo largo del periodo de crecimiento del rábano. Las determinaciones realizadas durante el crecimiento de la judía, con cifras de recuentos similares, muestran semejante evolución en este tipo de microorganismos y en los demás estudiados. En esta tabla XXXIV y mejor en la figura 15, donde se han representado gráficamente los valores expuestos en aquella, se aprecia la evolución de la microflora sulfooxidante. Aquí, como era de esperar al contrario que en las experiencias de tipo A, la evolución de este tipo de microorganismos no presenta un máximo de desarrollo sobre el tratamiento que solo recibe una pulverización, creciendo el número de sulfooxidantes con cada aplicación de azufre.

La discrepancia que se observa, si se compara la marcha de estas sulfobacterias en los tratamientos con suelo cubierto aquí y en las experiencias de tipo A, se debe sin lugar a dudas, al tiempo transcurrido entre la preparación del suelo y el comienzo de las determinaciones. En las experiencias de tipo A, se aprecia un máximo claro hacia la cuarta toma de muestra, mientras en la incluida aquí, el máximo número de sulfooxidantes se encuentra al comienzo, primera y segunda toma de muestras, lo que indica que el suelo se encontraba ya en regresión hacia el equilibrio microbiano.

Las bacterias sulfatorreductoras, tabla XXXV y figura 16, evolucionan de igual forma en todas sus variantes, con un rápido incremento después del tratamiento, y también un rápido descenso hasta la cifra normal en muy corto plazo. El máximo obtenido, es mayor conforme se acumulan los tratamientos y prácticamente coinciden en el mismo tiempo, en todos los ensayos.

En relación con la actividad amonificante, se aprecia en estas experiencias, según se deduce de las figuras 17 a 22 y en el resumen de todas ellas, figura 23, que tienden a disminuir a lo largo del tiempo de experimentación. La disminución más acentuada conforme se van acumulando los tratamientos con azufre. Esta evolución confirma las registradas en las determinaciones realizadas en las experiencias con pulverizaciones no acumuladas. La relación C/S ó C/N parece debe encontrarse en un nivel adecuado para que haya una buena actividad amonificante. No se encuentra descrito este comportamiento en la literatura consultada, pero el hecho de que ocurre lo contrario de lo que le sucede a la microflora del azufre y nitrificante, como antes se vió y seguidamente se confirmará, cabe pensar en un desequilibrio microbiano que afecta en sentido negativo a esta actividad amonificante.

El hecho de que la microflora nitrificante, bastante sensible a un medio ácido (Wood, 1966) se incrementa, es señal del buen efecto tamponante del suelo escogido, con un contenido en carbonato cálcico relativamente alto y por lo tanto no cabe pensar que el pH sea la causa del comportamiento de la microflora amonificante. La amonificación es un proceso poco específico y que se da en todos los suelos bajo condiciones ecológicas muy diferentes, (Dommergues y Mangenot, 1970).

El efecto de la adición de azufre sobre la nitrificación tanto nitrosa como nítrica es evidente, según se desprende de los resultados expuestos en las tablas XLII y / XLIII y en las gráficas de las figuras 24 y 25. Como consecuencia de cada pulverización el número de nitrificantes se acumula dejándose de observar la fórmula normal del desarrollo que tanto para los nitrosos como para los nítricos se aprecia en los suelos cubiertos.

Si se comparan las tablas XLII con la XXVIII y la XLIII con la XXIX se puede ver el diferente comportamiento de los nitrificantes en los dos tipos de experiencias, muy marcados especialmente en el caso de la actividad nítrica.

En la literatura consultada como antes se dijo, los datos que se encuentran son contrarios a los expuestos aquí. Evidentemente conclusiones sobre el efecto de la adición de azufre al suelo, sobre la flora nitrificante solo se puede tener realizando una especie de "screening" sobre

una amplia gama de suelos. Pero es posible afirmar que para el suelo clasificado como número II en concreto, el efecto es beneficioso.

Numerosas han sido las determinaciones fisiológicas llevadas a cabo a lo largo de estas experiencias de invernadero con el ánimo de encontrar algún parámetro que relacione la variante introducida de los tratamientos con azufre de las plantas con suelo cubierto y suelo no cubierto.

Además del peso fresco de la parte aérea de judía y evolución e intensidad de la floración y fructificación que ya se tuvieron en cuenta en la experiencia tipo A, tanto en rábano como en judía, en este otro tipo de experiencias, pulverizaciones acumulativas, se han completado las determinaciones fisiológicas con el peso seco de la parte aérea de ambas especies vegetales y peso fresco y seco del fruto, en el caso de la judía, y de la raíz en el caso del rábano, materiales ambos de importancia comercial.

Los resultados obtenidos de peso fresco y seco de la parte aérea de las plantas de rábano, muestran un incremento proporcional al número de tratamientos (tablas XLIV, XLV, XLVIII y XLIX).

Como en la experiencia de tipo A, se ha dado el dato correspondiente al tratamiento en tiempo cero el valor de 100, calculando en los demás el incremento porcentual sobre él.

Si bien los resultados mantienen un nivel aceptable de significación dentro del lote de suelo cubierto y suelo no cubierto las diferencias existentes entre las plantas tratadas de una forma o de otra y que se aprecia en las figuras correspondientes, figuras 26 y 27, carecen de significación. En ambas se muestra una tendencia similar, siendo la forma de la representación gráfica indicativa de la respuesta de la planta a un solo nutriente, salvo en la correspondiente a suelo cubierto donde en el tercer tratamiento hay una estabilización que se puede observar, aunque más suavizada, en la gráfica correspondiente a suelo no cubierto.

Esto hecho,

Este hecho, aunque los errores de la media de estos tratamientos caen dentro de un intervalo admitido, podría pensarse que se debe a una respuesta a cualquier variable no controlada en esta experiencia, pero se confirma sorprendentemente en otras experiencias, realizadas con una especie vegetal distinta, judía, con varios meses de intervalo, que solo mantienen en común el suelo y el modo de intensidad de realizar las pulverizaciones con azufre (tablas LII, LIII, LVI y LVII).

Superada esa fase, las plantas se recuperan con una nueva pulverización y las diferencias obtenidas entre las crecidas en suelo cubierto y no cubierto después de los tratamientos, son mínimas..

En las experiencias con rábano, se ha tenido en cuenta el peso de la raíz cosechada en el momento oportuno. De las tablas correspondientes XLVI, XLVII (peso fresco), L, LI (peso seco), se deduce que las plantas que reciben más de un tratamiento manifiestan un incremento porcentual en peso sobre el tratamiento a tiempo cero, apreciable pero no tan importante como el mostrado por la parte aérea de la planta.

En los histogramas presentados en las figuras 28 y 29 en los que se han representado los valores porcentuales / obtenidos para peso seco de la parte aérea y raíz de las plantas de rábano, respectivamente, considerando 100 los resultados correspondientes a las plantas que reciben un solo tratamiento, se observan que los incrementos porcentuales alcanzados son mayores para las plantas crecidas en suelo no cubierto que en suelo cubierto. Sin embargo los datos correspondientes a raíz, se muestran de sentido contrario, siendo mayores los incrementos obtenidos cuando las plantas crecen en suelo cubierto.

En las fotos de las láminas 1, 2 y 3 correspondientes, dos a dos, a suelo no cubierto (la superior) y a suelo cubierto (la inferior), y a 30, 45 y 60 días respectivamente, se observa que hasta los 45 días aproximadamente no aparecen diferencias patentes entre las plantas pertenecientes a los distintos tratamientos, diferencias que se acumulan conforme aumenta el número de pulverizaciones. Aparentemente, "de visu", no es posible establecer distinción /

entre las plantas crecidas en suelo cubierto y no cubierto. Esta semejanza entre los dos lotes de la experiencia, hizo que se realizase el mayor número posible de determinaciones fisiológicas y analíticas en las plantas al final de su desarrollo para poder establecer la importancia del azufre que cae al suelo en cada tratamiento.

Las determinaciones fisiológicas realizadas en judía, han sido, además del peso seco y fresco de la parte aérea el peso fresco y seco de los frutos y la evolución e intensidad de la floración y fructificación.

En relación con el peso fresco de la parte aérea y del fruto, se ha expuesto la forma particular de la representación gráfica (figura 30) de los valores incluidos en las tablas LII, LIII, LVI y LV. Sin embargo en judía se manifiesta también la estabilización el peso de las plantas que reciben cuatro y cinco tratamientos. No obstante, como se apreciaba en la tabla LVIII, las diferencias entre los pesos frescos de la parte aérea, obtenidas para las plantas crecidas en suelo cubierto y no cubierto, son significativas en alto grado, exceptuando las que reciben un solo tratamiento, que si bien hay una pequeña diferencia a favor del suelo cubierto, carece de significación.

En el caso del peso seco, las diferencias como es lógico, son también a favor de las plantas crecidas en suelo cubierto, siendo significativas para todos los tratamientos. (tabla LIX).

El porcentaje de incremento, expuesto en las tablas, es de por sí elocuente de que el azufre que cae al suelo, al ser transformado por vía microbiana, interacciona con otros nutrientes del suelo y limita el desarrollo de las plantas de judía, cosa que no ocurre cuando se evita que el azufre pulverizado caiga al suelo.

Evidentemente, en el caso de la absorción de azufre por vía foliar y radical, se origina un crecimiento a la vez limitado y controlado, mientras que cuando hay azufre disponible solo por vía foliar, el crecimiento de la planta se dispara, especialmente después de dos tratamientos, de tal forma que se crea un desequilibrio, puesto que un tercer tratamiento apenas supone ventaja alguna, solo un cuar-

to tratamiento 7 dias despues hace recuperar su desarrollo aparente, hasta el punto ideal a donde debería llegar de acuerdo con la altura que alcanza en la gráfica de las figuras 30 y 31.

Podria pensarse, como se dijo en la experiencia con rábanos, que esta manifestación se debia a un error de procedimiento, pero el hecho de presentarse en las dos especies vegetales y en todas las experiencias realizadas con tratamientos de azufre acumulativos, indica que no hay tal error, sino un especial comportamiento frente a los distintos nutrientes en ese estado del ciclo evolutivo de las plantas.

Coic (1961), describe que las plantas de trigo pasan en su ciclo biologico por una deficiencia de azufre temporal debido a que las necesidades en este periodo son muy grandes y no existe suficiente transformación microbiana en el suelo para suplir dicha carencia por coincidir con el invierno. Esta suposición puede aplicarse a los resultados obtenidos en rábano y judía para explicar la estabilización en el crecimiento que ocurre en las plantas crecidas en suelo cubierto que reciben tres tratamientos. Esta paralización del desarrollo, se agudiza por el incremento originado por la segunda pulverización.

En suelo no cubierto, en cambio, la transformación microbiana, es continua, dada la condición de experimentación, y por ello no se manifiesta dicha detención.

Si se tienen en cuenta los resultados referentes a peso de los frutos y dejando a un lado, o independientemente de los errores que se han cometido en la determinación, debidos a la dificultad de la normalización de la toma de muestra, se observa que ocurren los mismos hechos que en el caso del brote, un mayor peso para las plantas crecidas en suelo cubierto (tablas LIV, LV, LX y LXI) y una estabilización del mismo, coincidente con la manifestada por la parte aérea de las plantas.

En las tablas LXII y LXIII se expone la evolución de la floración y fructificación, determinada de acuerdo con el sistema expuesto en el capítulo de material y métodos (2.2.4.2.1).

Se aprecia en el conjunto de plantas que reciben más pulverizaciones, una precocidad patente en ambas series de tratamientos, a suelo cubierto y no cubierto.

El número de flores crece conforme aumenta el número de pulverizaciones. Como en todos los parámetros fisiológicos estudiados hasta ahora, los datos correspondientes a suelo cubierto son más altos que aquellos de las plantas crecidas en suelo no cubierto, y otra vez se manifiesta la estabilización para el segundo y tercer tratamiento del lote de suelo cubierto.

En la fructificación se aprecian similares manifestaciones a las expuestas en la floración.

En las fotos de las láminas 3, 4 y 5 correspondientes dos a dos, a suelo no cubierto (la superior) y a suelo cubierto (la inferior), y a 14, 21 y 28 días respectivamente, se aprecia al contrario de lo que ocurre en rábano, una diferencia entre las plantas que reciben distintos tratamientos muy precozmente a los 14 días, cuando solo han recibido dos pulverizaciones. Cuando en el caso del rábano no hay diferencias aparentes entre las plantas crecidas en suelo no cubierto y cubierto.

Se ha indicado en los resultados las determinaciones analíticas realizadas en la parte aérea de las plantas, en principio, de tres elementos mayoritarios, nitrógeno, fósforo y potasio tanto en rábano como en judía, y en esta última además azufre.

En la primera especie vegetal, no se aprecian grandes diferencias, entre el lote de suelo cubierto y no cubierto, (tablas LXIV a LXIX) aunque en el nitrógeno y potasio obtenido se manifiesta la estabilización correspondiente a suelo cubierto para las plantas que reciben tres tratamientos (figuras 34 y 35).

En judía, en cambio, las diferencias entre la concentración en nitrógeno y potasio entre los dos lotes de plantas, las crecidas en suelo cubierto y no cubierto es más /

patente como se puede observar en las tablas correspondientes LXXI, LXXII, LXXV y LXXVI y en las tablas LXXVII y / LXXVIII donde se han expuesto las diferencias entre los dos lotes de tratamientos, el nivel de probabilidad de cada uno, y el tanto por ciento que representa el incremento sobre los valores obtenidos para los tratamientos de suelo no cubierto.

Como puede apreciarse si se consideran estos dos elementos, nitrógeno y potasio, ocurre lo contrario que cuando se observa el peso fresco ó seco de brote de judía, el contenido en nitrógeno y potasio es superior prácticamente en todo momento en las plantas crecidas en suelo no cubierto, apreciándose la máxima diferencia entre lotes, justo en el tercer tratamiento, hecho que corresponde a la dilución habida en elemento por un mayor desarrollo de las plantas.

Estos datos pueden explicar el comportamiento de unas y otras plantas y como para suelo no cubierto, debido al azufre disponible en el suelo se da una nutrición más equilibrada, por lo que el cultivo evoluciona de una forma normal a lo largo del ciclo fisiológico de la planta. El desequilibrio creado cuando se evita que el azufre siga al suelo, es la posible causa de que entre el segundo y el tercer tratamiento, en el caso del suelo cubierto no haya incremento en peso de la parte aérea de judía. En este momento es posible que se requieran las máximas disponibilidades de determinados nutrientes que por la falta de azufre en el suelo no son equilibradamente asimilables por lo que el desarrollo del vegetal se detiene. Pasado este bache, donde debe ocurrir una redistribución de ciertos nutrientes, entre ellos el azufre, una nueva pulverización por tanto una mayor cantidad de este elemento en la planta, / crea las condiciones para que la planta se recupere. Esta última hipótesis es difícil de explicar, pero no se puede olvidar la posible excreción por las raíces de las plantas de sustancias orgánicas con azufre incorporado, que en condiciones ideales es rápidamente mineralizado, independientemente de la interpretación antes dada, apoyados en los datos aportados por Coic (1961).

Estos hechos apreciables en róbano, son más patentes / en judía, posiblemente por ser aquella planta de altos requerimientos en azufre, por lo que el elemento puede estar siempre en la planta a un nivel por debajo de los limi-

tes necesarios para que las manifestaciones agudas observadas en judía, no ocurran.

El azufre, aunque no forma parte de las moléculas de clorofila, interviene en su síntesis (Blair, 1970). El contenido de clorofila por gramo de peso seco de las hojas de rábano y judía crece con el número de pulverizaciones a que son sometidas las plantas. La razón de crecimiento es mucho mayor en las plantas crecidas en suelo cubierto donde llega a niveles más altos que los correspondientes a / suelo no cubierto a pesar de ser los valores bastante inferiores en las plantas que reciben un tratamiento en el caso de judía ó incluso tres en el caso del rábano. En / las figuras 40 y 43, se observa claramente como las gráficas correspondientes a los resultados obtenidos en suelo no cubierto y cubierto se cruzan en un punto que prácticamente coincide con el momento de la inflexión en suelo no cubierto. (tablas LXX y LXXIX).

El hecho de que en los resultados correspondientes a las dos especies vegetales ensayadas, dentro de su similitud haya diferencia, puede deberse, entre otras causas a los distintos requerimientos por el azufre y al diferente tamaño de hoja, que no recoge la misma cantidad de este elemento. Para las plantas que reciben pocos tratamientos, el azufre que cae al suelo, contribuye también a la síntesis de la clorofila. Conforme la planta crece y la cantidad de azufre en el suelo va siendo mayor por los / tratamientos acumulativos, la respuesta a la adición de este elemento se invierte, de tal forma que ocurre como si el azufre del suelo inhibiera la síntesis de la clorofila por algún mecanismo que pudiera ser el sinergismo / magnesio-azufre que ocurre a bajas concentraciones de azufre y el antagonismo que se dá a concentraciones altas de este elemento.

Los resultados obtenidos del contenido en azufre en la parte aérea de las plantas de judía crecidas en suelo cubierto y no cubierto, no son fieles ya que el método seguido para su determinación, a pesar de incluir un energético lavado previo de la superficie foliar, no garantiza la total eliminación del elemento pulverizado (tablas LXXX y LXXXI). De hecho la cantidad de azufre obtenido es demasiado elevada. Por ello se ha considerado más interesante y

menos erróneo la determinación de uno de los aminoácidos azufrados, la metionina, que además es considerado por algunos autores como índice de calidad de un material que / contiene proteínas y que vaya a ser utilizado en la alimentación animal (Saalbach, 1966).

Como se observa en la tabla LXXXIII, no ha sido sólo la metionina el único aminoácido determinado, sino una serie de ellos para contar con más elementos de juicio que ayuden a interpretar algunos de los aspectos del tema.

Si se juega con los valores obtenidos, se encuentra que en el suelo no cubierto el contenido de cualquier aminoácido aumenta con el número de tratamientos hasta el tercero (tratamiento 3) disminuyendo en las plantas que reciben cuatro y cinco (tratamientos 4 y 5) siendo en estas / prácticamente iguales como ocurre con casi todos los parámetros estudiados, dado el periodo de crecimiento tan avanzado en que se encuentra la planta a partir del cuarto tratamiento.

Si se comparan estos datos con el contenido en nitrógeno, tabla LXXI, se puede apreciar la misma tendencia y si se establece la relación entre la concentración de este elemento y cualquiera de los aminoácidos determinados, se observa que dicha relación es mínima en las plantas que reciben dos y tres tratamientos, siendo mayor en las que reciben uno, cuatro ó cinco, lo que indica indirectamente / que en estos tres lotes hay una mayor proporción en nitrógeno no protéico que en las plantas pulverizadas dos ó tres veces.

Si tenemos en cuenta los valores encontrados en las plantas crecidas en suelo cubierto, es posible observar un lento incremento en el contenido en todos los aminoácidos conforme aumenta el número de tratamientos, sufriendo una rápida elevación en las plantas que reciben cuatro, continuando aumentando en las que reciben cinco, (tratamientos 9 y 10) donde se consiguen valores muy similares a los obtenidos en suelo no cubierto.

Hay que hacer constar la excepción de la metionina a esta regla, ya que el crecimiento hasta el cuarto tratamiento (tratamiento 9) es continuo y uniforme, decreciendo ligeramente en las plantas con cinco pulverizaciones.

La relación entre nitrógeno y cualquiera de los aminoácidos que no sea la metionina, es máxima para las plantas que reciben tres tratamientos y mínima para aquellas que reciben uno, cuatro ó cinco. En el caso de la metionina, la relación entre el nitrógeno y esta se mantiene prácticamente igual, cualquiera que sea el número de tratamientos.

En suelo cubierto la proporción de nitrógeno no protéico es mayor por tanto en la planta que recibe dos ó tres tratamientos.

Si se relacionan estos resultados con los obtenidos para peso fresco y seco de la parte aérea de la planta, se observará que exactamente en las plantas que reciben tres tratamientos hay una paralización del crecimiento cuando crecen sobre suelo cubierto, consiguiendo unos valores similares a los de las plantas que han recibido dos. Se aprecia claramente que cuando el azufre no cae al suelo, depositado en la hoja no es suficiente para las necesidades de la planta en la etapa fisiológica correspondiente a los tres primeros tratamientos. Es necesario más azufre que pueda provenir ó bien de una pulverización ó bien del existente en el suelo procedente de los tratamientos anteriores. Estos resultados están de acuerdo con las afirmaciones de (Stewart, 1966, Arora, et al 1971), sobre la relación entre la fertilización con azufre y el contenido en nitrógeno no protéico en las plantas. La metionina, en cambio, responde de una manera proporcional al número de pulverizaciones.

En las experiencias de tipo B con judía no aparecieron nodulos en las raíces de las plantas por la ausencia de Rhizobium en el suelo utilizado, con lo que no se introdujo una variable más. Sin embargo era interesante conocer la marcha de la asociación simbiótica Rhizobium-leguminosa en las condiciones de experimentación para lo que se / montaron las experiencias de tipo C, en todo igual a las de tipo B pero con la inoculación previa de las semillas de judía con su Rhizobium específico, R. phaseoli. Oke (1968) ya describió entre otros autores la importancia del azufre en el suelo para la infección de las raíces de las leguminosas por Rhizobium. Nada se encuentra en la Bibliografía

sobre un estudio similar al realizado aquí, utilización del azufre por vía foliar y a dosis distintas. Los resultados obtenidos son en parte de difícil interpretación y se requiere una más intensa investigación en esta dirección para su total conocimiento.

En suelo no cubierto, esto es, cuando cae azufre al suelo, hay un incremento en la nodulación conforme aumenta el número de tratamientos hasta un máximo que aparece en las plantas que reciben tres pulverizaciones disminuyendo en las de cuatro y cinco (tabla LXXXIV). La gráfica de la figura 44 es bien clara en ese sentido.

Cuando el suelo se cubre, el comportamiento de la planta es diferente. El número de nodulos decrece al aumentar el número de pulverizaciones (figura 44). Esta inhibición de la nodulación es ya patente en las plantas que reciben una sola pulverización, que presentan un grado de infección inferior a las plantas correspondientes que crecen en suelo no cubierto.

Estos hechos confirman en parte las afirmaciones de Oke (1968): el azufre es necesario en el suelo para la infección de las raíces de las leguminosas por Rhizobium y cuanto mayor cantidad hay, más intensa es la nodulación. Aquí se aprecia que esto es cierto hasta un determinado nivel. La interpretación del máximo de nodulación que aparece en las plantas crecidas en suelo no cubierto, es difícil. Por una parte este punto coincide con una serie de máximos encontrados para suelo no cubierto en algunos parámetros estudiados, contenido en nitrógeno, potasio, aminoácidos, etc. y por otra parte cabe pensar que en las condiciones de experimentación, cuando se realizan la cuarta y quinta pulverización, la mayor parte del azufre pulverizado queda retenido en la parte aérea de las plantas cuya frondosidad evita que caiga mucho azufre al suelo con lo que las plantas que sufren cuatro y cinco tratamientos se comportan como si pertenecieran a suelo cubierto, donde ya se ha dicho, que se da una disminución de la intensidad de la nodulación con el aumento del número de pulverizaciones.

Esta inhibición de la infección por azufre en las plantas crecidas en suelo cubierto, tienen que interpretarse teniendo en cuenta sólo la planta, ya que el suelo es siempre el mismo en cuanto a contenido de azufre se refiere.

En aquella, en cambio, la concentración de este elemento crece con el número de pulverizaciones. El azufre en la planta es poco móvil. Su presencia en la hoja crea posible-mente un cierto desequilibrio en las raíces que origina una mayor resistencia a la infección. Cuando cae azufre al suelo la entrada de este por vía radical, previa transformación microbiana, suministra la cantidad necesaria de elemento. En realidad no se tiene otro dato que nodulación. Se ha considerado en este comentario la nodulación similar a la infección, sin embargo, es bien conocido el hecho de que sólo un porcentaje muy bajo de los pelos radicales infectados llegan a ser verdaderos nódulos. De los datos que se tienen, no se sabe si es la infección ó es la nodulación la que se ve afectada. En el caso de que fuera la infección, podría pensarse que se debe a que los pelos radicales de las plantas crecidas en suelo cubierto responden mal al estímulo ó inducción provocada por las bacterias para la producción por las células radicales de ciertas sustancias, entre ellas la poligalacturonasa, que permiten la infección.

Estos hechos, no descritos hasta ahora, requieren, como antes se dijo, un mayor estudio, amplio y complicado, pero bastante interesante.

No es posible hablar de actividad ya que el Rhizobium utilizado era infectivo pero poco activo como se ha podido comprobar por las características de la nodulación obtenida.

C-O N C L U S I O N E S

CONCLUSIONES

1. La microflora sulfooxidante y sulfatorreductora presente en el suelo sigue una evolución a lo largo de un período de incubación a temperatura y humedad adecuadas, paralela a la encontrada en otros tipos de microorganismos del suelo, presentando un máximo hacia la tercera semana independientemente del suelo estudiado.
2. La adición de azufre al suelo multiplica por un factor próximo a 100 el número de sulfobacterias presentes en el mismo, manteniéndose la clásica evolución a lo largo del período de incubación.
La incorporación de materia orgánica incrementa unas diez veces el número de sulfobacterias, mientras que la adición simultánea de azufre y materia orgánica da lugar a cifras superiores a las obtenidas con esta última, pero en todo caso bastante inferiores a las conseguidas con azufre solo.
La adición de materia orgánica retrasa además la aparición del máximo en una o dos semanas en todos los casos.
3. La actividad sulfooxidante de un suelo es independiente de la cantidad de sulfato presente en el mismo.
4. La pulverización con azufre en distintos tiempos del ciclo evolutivo de las plantas utilizadas, judía y rábano, da lugar, cuando se deja caer el elemento al suelo, a un incremento de las actividades sulfooxidantes, sulfatorreductora y nitrificante en sus dos aspectos, seguido a cada tratamiento con un regreso posterior a las cifras normales de los respectivos microorganismos. La microflora amonificante decrece a lo largo del tiempo considerado.
5. El tratamiento con azufre de las plantas de judía y rábano en distintos tiempos de su ciclo evolutivo, no da lugar a diferencia alguna entre la época de realización de la pulverización ni entre las plantas crecidas en suelo cubierto y no cubierto. Sólo es apreciable una ligera precocidad de la floración y fructificación, así como un pequeño aumento en el número de flores y frutos en judía cuando las plantas reciben el tratamiento antes de estas fases del ciclo vegetativo.
6. La microflora sulfooxidante y nitrificante del suelo donde se deja caer azufre en los tratamientos acumulativos con este elemento, ma

nifiesta un incremento también acumulativo, no observándose disminución hacia las cifras normales nada más que en los suelos correspondientes a las plantas que reciben un solo tratamiento.

El número de bacterias sulfatorreductoras muestra la evolución normal conocida de un máximo, aproximadamente de la misma altura, en los suelos de las plantas que sufren dos, tres, cuatro o cinco tratamientos y coincidentes en todos ellos hacia la cuarta toma de muestra.

La actividad amonificante disminuye conforme aumenta el número de tratamientos con azufre.

7. La utilización del azufre por vía foliar en forma de tratamientos acumulativos da lugar a un desarrollo en las plantas (peso de la parte aérea) que aumenta con el número de tratamientos. Este número es uniforme en las plantas crecidas en suelo no cubierto, mientras que se aprecia una inflexión correspondiente al tercer tratamiento cuando crecen en suelo donde se evita que caiga el azufre.
8. La precocidad y el número de flores y frutos aumenta con el número de tratamientos. Los incrementos son mayores para las plantas crecidas en suelo cubierto que en las desarrolladas en suelo no cubierto.
9. El contenido en nitrógeno se incrementa gradualmente con el número de pulverizaciones en las plantas crecidas en suelo no cubierto, mientras que presenta un máximo correspondiente a las plantas desarrolladas sobre suelo no cubierto con tres tratamientos.
El potasio sigue paralelo al nitrógeno en todos los casos y el fósforo permanece constante independientemente del número de pulverizaciones.
10. El contenido en clorofila de las hojas de rábano y judía se incrementa también con el número de pulverizaciones. Para una o dos pulverizaciones, las plantas crecidas en suelo no cubierto suministran valores más altos. Cuando reciben cuatro y cinco tratamientos se invierten los resultados, siendo las plantas crecidas en suelo cubierto las de mayor concentración en clorofila. Una relación S-Mg sinérgicas a bajas concentraciones y antagónica a altas, puede ser la causa de los valores obtenidos.
11. Los resultados más altos en concentración en metionina se obtienen en las plantas crecidas en suelo no cubierto y que reciben tres tratamientos con azufre. Otros aminoácidos presentan un crecimiento más o menos homogéneo con el número de tratamientos tanto en plantas crecidas en suelo no cubierto como cubierto.

12. La utilización del azufre como fertilizante, por vía foliar únicamente -plantas crecidas en suelo cubierto- inhibe la formación de nódulos en las raíces de judías procedentes de semillas bacterizadas. La inhibición es tanto más intensa cuanto mayor es el número de pulverizaciones realizadas.

La absorción conjunta foliar y radical del azufre favorece la nocolación, siempre que el nivel de azufre utilizado no sobrepase determinado valor.

13. Como conclusión resumen, el papel jugado por los microorganismos del azufre en el suelo, en el tipo de experimentación realizada, es importante especialmente para algunos parámetros: concentración de nitrógeno en planta, contenido en metionina y otros aminoácidos, nodulación en leguminosas, que muestran con tres tratamientos valores más altos que las plantas crecidas en suelo cubierto y que reciben incluso los cinco tratamientos.

Otras características, en cambio, crecimiento, floración, fructificación y contenido en clorofila, son bastante sensibles a un exceso de azufre por lo que los valores obtenidos para las plantas crecidas en suelo cubierto son más altos que los correspondientes a las plantas desarrolladas en suelo donde se ha permitido llegue azufre.

De acuerdo con la finalidad del cultivo, puede escogerse la forma y frecuencia de la realización de las pulverizaciones con azufre.

B I B L I O G R A F I A

- ADAMS, H.R. (1924). Some effects of sulphur on crops and soils. *Soil Sci.* 18, 111-115.
- ALEXANDER, M. (1961). Introduction to soil microbiology. Wiley and Sons, New York.
- ALLAWAY, W.H. y THOMPSON, J.F. (1966). Sulphur in nutrition of plants and animals. *Soil Sci.* 101(4), 240-247.
- ALLEN, O.N. (1951). Experiments in soils bacteriology. Burgess Publishing Minneapolis, Minnesota.
- ALLEN, S.E. y MAYS, D.A. (1971). Sulphur-coated urea for controlled release: Agronomic evaluation. *Agric. and Food Chem.* 19(5), 809-812.
- ALLISON, F.E., KEFAUVER, M. y ROLLER, E.M. (1953) Ammonium fixation in soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 17, 107-110.
- AMBROZOVA, M. (1969). The biological reduction of sulphates in arables soils. *Rostl. Vyroba* 15, XLII, 237-242.
- AMBROZOVA, M. (1971). Microbiological reduction of sulphate in agricultural soils. *Folia microbiologica* 16, 511-512.
- ANDERSON, A.J. y SPENCER, D. (1950). Sulphur in nitrogen metabolism of legumes and non-legumes. *Aust. J. Sci. Resch.* 3, 341-449.
- ANSTETT, A. (1972). Les exportations en soufre en maraichage pleine terre. *Ann. Agron. n° hors serie.* 57-80.
- ARNON, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiol.* 24(1), 1-15.
- ARORA, S.K. (1971). Relation between sulphur content of leaf and methionine, cystine and cysteine contents in the seeds of Phaseolus aureus as affected by sulphur phosphorus and nitrogen applications. *Plant Soil*, 34(1), 91-96.

- ARORA, S.K. y LUTHRA, Y.P. (1971). Nitrogen metabolism of leaves during growth of *Ph. aureus* (bean) as affected by sulphur phosphorus and nitrogen application. *Plant Soil*, 34(2), 283-291.
- ARMAND, J.P., BLANC, M., RINET, J.F., KEILLING, J., LAVIGNAS, G. y PELLEGRIN, S. (1971). Treating plants to avoid development disorders on alkaline soils. *Fr. Demande* 2, 135, 051(C1 A Oin).
- ASHORD, R. y BOLTON, J.L. (1961). Effects of sulphur and nitrogen fertilization and inoculation with *Rhizobium meliloti* on the growth of sweet clover. *Can. J. Plant Sci.* 41, 81.
- ATTOE, O.J. y OLSON, R.A. (1966). Factors affecting rate of elemental sulphur and that added in rock phosphate-sulphur. *Soil Sci.* 101(4), 317-325.
- AYLMORE, L.A.G., MESBAHUL KARIM, y QUIRK, J.P. (1967). Absorption and desorption of sulphate ions by soils / constituents. *Soil Sci.* 103(1), 10-15.
- BAARS, J.K. (1930). Over sulphat reductive door bacterien. Dissertation, University of Delft, Holland.
- BAMBERGS, K. (1973). Sulphur containing fertilizer increase crop yield and improve protein quality. *Latv 7 PSR Zinat AKAD Vestis* 5, 140-142.
- BANATH, C.L. (1969). Iron pyrites as a sulphur fertilizer. *Austral. J. Agric. Res.* 20, 697-708.
- BARDSLEY, C.E. (1960). Absorption of sulphur from organic and inorganic sources by bush beans. *Agronomy J.* 52, 485-486.
- BARDSLEY, C.E. y LANCASTER, J.D. (1960). Determination of reserve sulphur and soluble sulphates in soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 18, 259-168.
- BARDSLEY, C.E. y JORDAN, H.V. (1957). Sulphur availability in seven southeastern soils as measured by growth and composition of white clover. *Agron. J.* 49, 310-312.

- BARJAC, H. de (1954). Denitrifying microflora its normal presence in the soil. Ann. Inst. Pasteur, 87, 440-444.
- BARJAC, H. de y POCHON, J. (1953). Titration of the ammonifying power of the microflora of soils. Ann. Inst. Pasteur. 87, 440.
- BARROW, N.J. (1960). Stimulated decomposition of soil organic matter during the decomposition of seed organic materials. Aust.J.Agric.Research, 11, 331-338.
- BARROW, N.J. (1961). Studies on mineralization of sulphur from soil organic matter. Australian J.Agric.Research. 11, 960-969.
- BARROW, N.J. (1961a). Mineralization of nitrogen and sulphur from sheep faeces. Austr.J.Agric.Res. 4, 644-650.
- BARROW, N.J. (1967). Studies on extraction and on availability to plants of adsorbed plus soluble sulphate. Soil Sci. 104, 242-249.
- BARROW, N.J. (1971). Iron sulphides as fertilizers. Sulphur Inst.J. 7(1), 2-6.
- BARROW, N.J. y SPENCER, K. (1959). Lateral movement of fertilizer sulphur. J. Austr.Inst.Agric.Sci. 25, 208-209.
- BARROW, N.J., SPENCER, K. y McARTHUR, W.M. (1969). Effects of rainfall and parent material on the availability of soils to adsorb sulphate. Soil Sci. 108, 120-122.
- BEATON, J.D. (1966). Sulphur requirements of cereals tree fruits vegetables and other crops. Soil Sci. 101 (4), 267-282.
- BEATON, J.D. (1971). Market potential for fertilizer sulphur. National Fert. Develop. Cent. Alabama Bull. / Y-35 Sept.

- BEATON, J.D., TISDALE, S.L. y PLATOU, J. (1971). Crop responses to sulphur in North America. Sulphur Inst. J.Tech.Bull. nº 18.
- BEILKE, S. (1970). Berichte des Instituts für Meteorologie und Geophysik der Universität Frankfurt. nº 19.
- BERG, W.A. y THOMAS, G.W. (1959). Anion elution patterns from soils and soil clays. Soil Sci.Soc.Amer.Proc. 23, 348-350.
- BERTRAMSON, B.R., FRIED, M. y TISDALE, S.L. (1950). Sulphur studies of Indiana soils and crops. Soil Sci. 70, 24-42.
- BETHGO, O. (1954). An apparatus for the wet ashing of organic matter. Anal.Chem.Acta. 10, 317-320.
- BERTRAND, G. et al., (1927). Sur le dosage du soufre contenu dans la terre arable. Ann.Agron. 71-77.
- BHARDWAJ, S.P. y PATHAK, A.N. (1968). Effect of sulphur on bacterial nodulation of ground nut roots. Curr.Sci. 37, 351-352.
- BHUYAN, Z.H. (1971). The oxidation of elemental sulphur in soil. Bangladesh J. of Soil Sci. 7(1), 55-57.
- BIRCH, H.F. (1958). The effect of soil drying on humus decomposition and nitrogen availability. Plant Soil 10, 9.
- BIRCH, H.F. (1959). Further observations on humus decomposition and nitrifications. Plant Soil 11, 262-286.
- BIRCH, H.F. (1961). Nitrification in soils after different periods of dryness. Plant Soil 12, 81.
- BIXBY, D.W. y BEATON, J.D. (1970). Sulphur-Containing Fertilizer. Sulphur Inst.J.Tech.Bull. nº 17.
- BLAIR, G.B. (1971). The sulphur cycle. The Journal of the Australian Inst.of Agric.Sci. 113-121.

- BLASCO, M.L. y CORNFIELD, A.H. (1971). Nitrification in / saline sodic acidified with aluminium sulphate. *Geoderma* 5, 161-164.
- BLOCK, R.J. y BOLLING, D. (1951). The amino acids composition of proteins and foods. Charles C. Thomas Publishers, Springfield, Ill.
- BOHME, H. (1970). Fluorides and sulphur dioxide as causes of plant damage. *Fluoride Quart Rep.* 3(3), 137-42.
- BOUAT, A. y CROUZET, C. (1965). Notes techniques sur un appareil semiautomatique de dosage l'azote et de / certains compose volatils. *Ann. Agron.* 16(1), 107-118.
- BOUYOCCOS, G.J. (1951). A recalibration of the Hydrometer method for making mechanical analysis of soils. *Agron. J.* 43, 434-438.
- BROMFIELD, S.M. (1953). Sulphate reduction in partially sterilized soil exposed to air. *J. Gen. Microbiol.* 8, 378-390.
- BROWN, P.E. (1923). Sulfofication in pure and mixed cultures, with special reference to sulphate production. *J. Amer. Soc. Agron.* 15, 350-382.
- BROWN, J.C. (1961). Iron chlorosis in plants. *Advan. Agron.* 13, 329-369.
- BURNS, G.R. (1967). Oxidations of sulphur in soils. *Sulphur Inst. J. Tech. Bull.* n° 13.
- BUYANOVSKU, G.A. (1973). Distribution of bacteria participating in the sulphur cycle and their role in soil processes. *Pochvovedemie.* 3, 19-26.
- CAIRNS, R.R. y RICHER, A.C. (1960). A comparative study of a sulphur responsive and a non-responsive Grey-Wooded soil. *Can. J. Soil Sci.* 40, 246-254.
- CAPITAN, F. y GARCIA, R. (1957). Sobre la determinación de fosforo y potasio "asimilable" en los suelos de la Vega de Granada. *Anal. de Edaf. y Fisiol. Veg.* XVI / (9-10), 957-970.

- CAPITAN, F. Y MARTINEZ, F. (1954). Sobre la determinación espectrofotométrica del fosforo con "Amidol". Ana. Edaf. y Fisiol. Veg. XIII (11). 767-790.
- CHIRILEI, H. CURTICAPEANU, G. y DICU, A. (1966). The effects of sulphate ions and of sulphate and molybdate on nodule formation sugar sintesis and nitrogen / and phosphorus asimilation in Vicia Faba minor. Lucr. Stiint Inst. Agron. "N. Balescu". 9A, 421-434.
- C.I.A.F. Comite Inter-Institutos para el Estudio de Técnicas Analíticas de Diagnostico Foliar. (1969). Métodos de referencia para la determinación de los elementos minerales en vegetales. I. Nitrogeno, fósforo, potasio, sodio, calcio y manganeso. Ana. de Edaf. y Agrobiol. XXVIII 5-6, 409-430.
- CIMANOWSKI, J. (1972). Evaluation of the effectiveness of various methods of controlling *Podosphaera leucotricha*-apple powdery mildew. Pv. Inst. Sadow Skierniewicach. 14, 241-255.
- CLARK, F.E., ZAUMEYER, W.J. y PRESLEY, J.T. (1957). Soil borne plant diseases. The yearbook of agriculture. 333-339. Depart. of Agric. Washington, D.C.
- COIC, Y. (1960). Perspectives de deficiencias en soufre / dans l'agriculture francaise. VII Asam. Gen. Centre Inter. des engrais Chimi. Lisboa.
- COIC, Y. (1961). La nutrition en soufre de nos cultures / perspectives de deficiencia en cet element. Bull. Docum. ISMA 29, 1.
- COIC, Y. (1962). The influence of sulphur deficiency on / the absorption of minerals and the metabolism of nitrogen and organic acids in barley. Ann. Physiol. Veg. 4, 295.
- COIC, Y., FAUCONNEAU, G. y PION, R. (1962). Variations de la composition en acides aminés de "la" protéine foliaire et de "celle" du grain d'orge, sous l'effet d'une deficiencia en soufre. C.R. Ac. Sci. 255, 999-1001.

- COLEMAN, R. (1966). The importance of sulphur as a plant nutrient in world crop production. *Soil Sci.* 101 (4), 230-239.
- CONCARET, J. (1972). Sulphur deficiencies in Continental Europe: Conditions. *Ann. Agron. n° hors serie* 341--350.
- COPPIER, O. y DE BARJAC, H. (1952). Actual and potential / ammoniating power of the soil in relation to micro flora. *Ann.Inst.Pasteur*, 83, 118.
- COWLING, D.W. y JONES, L.H.P. (1971). Sulphur deficiency / on two forage plants in England. *Sulphur Inst.J.* 6 (4), 11.
- DATTA DE, S.K. y MAGNAYE, C.P. (1969). A survey on the forms and sources of fertilizers nitrogen for flooded rice. *Soils and Fert.* 32(2), 103-108.
- DAWSON, M.D. (1969). Sulphur on pasture legumes in Oregon. *Sulphur Inst.J.* 5(3), 16-18.
- DECAU, J. (1972). Sulphur supplied by organic manures. *Ann. Agron. n° hors serie*, 315-316.
- DEKOCK, P.C. (1955). Iron nutrition of plants at pH high. *Soil Sci.* 79, 167-175.
- DELOCH, H.W. y BUSSLER, W. (1965). The growth of various / plants in pot trials depending on sulphate supply. *Z, Pflanzenernachr Dung.Bodenk.* 108(3), 232-244.
- DOMMERGUES, Y. y MANGENOT, (1970). *Ecologie microbienne du sol.* Edit.Masson et Cie., Paris.
- DEVINE, J.R. et al. (1963). Fields experiments comparing ammonium nitrate, ammonium sulphate and urea applied repetitively to grassland. *J.Agric.Sci.* 60, 297-303.
- DUBE, S.D. y MISKA, P.H. (1970). Effect of sulphur deficiency on growth yield and quality in some of the important leguminous crops. *J.Ind.Soc,S.Sci.* 18(4), 375-378.

- DUCHAUFOR, Ph. (1965). *Precis de Pedologie*. Masson et Cie. Editeurs Paris.
- DULEY, F.L. (1916). *J. Amer. Soc. Agron.* 8, 154-160. Cita-do por Jordan, H.V. y Ensminger, L.E. (1958). *Adv. in Agron.* 10, 407-434.
- EATON, S.V. (1941). Influence of sulphur deficiency on me-tabolismo of the sunflower. *Botan.Gaz.* 102, 533--556.
- ENSMINGER, L.E. (1954). Some factors affecting the adsorp-tion of sulphate by Alabama soils. *Soil Sci.Soc. / Amer.Proc.* 18, 259-264.
- ENSMINGER, L.E. (1958). Sulphur in relation to soil ferti-lity. *Alabama Agric.Expt.Sta.Bull.* n° 312.
- ENYI, B.A.C. (1965). The efficiency of urea as fertilizer under tropical conditions. *Plant and Soil.* XXIII, 385-396.
- ERGLE, D.R. y EATON, F.M. (1951). Sulphur nutrition of co-tton plant. *Plant Physiol.* 26, 639-654.
- ESTEBAN, E., GOMEZ, M., GARCIA-CHICANO, J. y GALLARDO, F. (1973). Estudios de algunos metodos de determina-ción de fosforo asimilable en suelos. *Ana. Edaf. y Agrobiol.* XXXII (1-2), 135-142.
- ESTEBAN, E. (1974). Comunicación personal.
- FALLER, N. (1968). Der schwefelfioxydgehalt der Lunft als komponente der schwefelversorgung der pflanze. *Dissertation. University of Giessen.*
- FALLER, N. y HERWIG, K. (1969). Studies on SO₂ oxidation in diferent soils. *Goderma* 3, 45-54.
- FALLER, N., HERWING, K. y KUHN, H. (1970). Sulphur dioxide S₃₅ uptake from the air. II.- Uptake metabolism and distribution in plants. *Plant and Soil* 33, 273-295.
- FENSTER, W.E. (1965). Availability of phosphorus in rock / phosphate-sulphur fusions. M.S. thesis Univ.of Wis-consi.

- FOMIN, P.I., FOMINA, O.G. y CHERNUKHINA, A.P. (1972). Effect of sulphur on the yield of feed and vegetables crops on loamy-sod-podzolic soil. Pot experiments. *Khim.Sel.Khoz.* 10(10), 753-757.
- FOX, R.L., ATESALP, H.M., KAMPBELL, D.H. y RHOADES, H.F. (1964). Factors influencing the availability of / sulphur fertilizers to alfalfa and corn. *Soil Sci. Soc.Amer.Proc.* 28, 406-408.
- FREDERICK, R.L., STARKEY, R.L. y SEGAL, W. (1957). Decomposability of some organic sulphur compounds in / soil. *Soil Sci.Soc.Amer.Proc.* 21, 287-292.
- FREEMAN, G.G. y MOSSADEGHI, N. (1972). Influence of sulphate nutrition on flavour components of tree cruciferous plants, radish, cabbage y white mustard. *J. of the Science of Food and Agric.* 23(3), 387-402.
- FRENEY, J.R. (1960). The oxidation of cysteine to sulphate in soil. *Australian J.Biol.Sci.* 13, 387-392.
- FRENEY, J.R. (1961). Some observations of the nature of organic sulphur compounds in soil. *Australian J.Agr. Research.* 12, 424-432.
- FRENEY, J.R. (1967). Sulphur containing organics. *Soil Biochemistry* 229-259. Eds. McLaren and Peterson. New York.
- FRENEY, J.R. (1967a). Oxidation of Sulphur in soil. *Miner. Deposita.* 2(3), 181-187.
- FRENEY, J.R., BARROW, N.J. y SPENCER, N. (1962). A review of certain aspects of sulphur as a soil constituent and plant nutrient. *Plant and Soil* 17, 295-309.
- FRENEY, J.R. y SPENCER, K. (1960). Soil sulphates changes in the presence and absence of growing plants. *Australian J.Agric. Research* 11, 339-345.
- FRENEY, J.R. y STEVENSON, F.J. (1966). Organic sulphur transformations in soils. *Soil Sci.* 101, 307-316.

- FRIED, M. (1948). The absorption of sulphur dioxide by plants as shown by the use of radioactive sulphur. Proc. Soil Sci. Soc. Amer. 135-138,
- FURUSAKA, C. (1968). Studies on the activity of sulphate-reduction in paddy soil. Bull. Inst. Agr. Res. Tohoku Univ. 19, 101-184.
- GACHON, L. (1972). Sulphur losses by drainage. Ann. Agron. N° hors serie 11-22.
- GALLARDO-LARA, F. (1971). Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia Universidad de Granada. Granada.
- GAUR, B.L., SING, H.G. y CAHOON, G.A. (1971). Effect of sulphur in the prevention of incipient iron chlorosis in cron. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 2(4), 259-265.
- GAW, H.Z. y SOONG, P.N. (1942). Nodulation and dry weight of garden peas as affected by sulphur and sulphates. Agron. J. 34, 100-103.
- GERET, L., SZABOLCS, I., ABRAHAM, L. y BOCKSAI, J. (1972). Gypsum in soil improvement. Ann. Agron. n° hors serie, 309-313.
- GERVY, R. (1972). Apports de soufre par les engrais phosphates et composes. Ann. Agron. n° hors serie, 275-284.
- GOLDBERG, S.S. y GAINNEY, P.L. (1955). Role of surface phenomena in nitrification. Soil Sci. 80, 43-53.
- GOUNY, P. (1972). Sulphur supplied by irrigations waters. Ann. Agron. n° hors serie, 249-256.
- GRANT, P.M. y SHAXSON, T.F. (1970). The effect of ammonium sulphate fertilizer on the sulphur content of Tea Garden Soils in Malawi. Tropica Agric. (London), 47 (1), 31-6.
- HALLBERG, R.O. (1970). An apparatus for the continuous cultivation of sulphate-reducing bacteria and its applications to geomicrobiological purposes. Antonie van Leeuwenhoek 36, 241-254.

- HANLEY, P.K. (1972). Les carences en soufre; conditions de leur apparition. Ann.Agron. n^o hors serie, 227-239.
- HAQUE, I y WALMSLEY, D. (1972). Incubation studies on mine realization of organic sulphur and organic nitrogen.
- HARDESTRY, J.O. (1967). Watch that salt content. Farm.Chemicals, Oct. 42-48.
- HARPER, H.A. (1969). Le soufre dans les urines et les féces. Précis de Biochimie. A.Colin édt.
- HARRE, E.A. (1969). Fertilizers Trends. Tennessee Vallery authority, Muscle-Shoals Alabama U.S.A.
- HART, M.G.R. (1959). Sulphur oxidation in tidal magrove soils of Sierra Leone. Plant and Soil 9, 215-236.
- HART, L.B. y PETERSON, W.H. (1911). Sulphur requirements of farm crops in relation to the soil and air supply. Wisconsin Research Bull. 14
- HARWARD, M.E., CHAO, T.T. y FANG, S.C. (1962). Radio-isotopes in soil plant nutrition studies. International Atomic Energy Agency, Vienna 93-114.
- HESSE, P.R. (1957). Sulphur and nitrogen changes in forest soils East Africa. Plant and Soil 9, 86-96.
- HESSE, P.R. (1958). Fixation of sulphur in the muds of Lake Victoria. Hydrobiologia 11, 171-181.
- HILDER. E.J. y SPENCER, K. (1954). Influencia of sulphur on a natural Medicago pasture. J.Australian Inst. Agric.Sci. 20(3), 171-176.
- HINGSTON, F.J. (1959). The loss of applied phosphorus and sulphur from soil under pasture. J.Australian Inst. Agric.Sci. 25, 210-213.
- HIGNETT, T.P. (1967). Vortrag Tagung der "International Sulphurphosphate Manufacture Association". (I S M A) in Stresa Sept. 4-7.

- HIRABAYASHI, S., KIRINUKI, T y NAKATA, M. (1967). Effects of agricultural chemicals upon the action of soil-microorganism. I Effects of sulphur agents upon nitrification and ammonification in the soil. Sci. Rep. Hyogo Univ. Agric. 8(1), 27-30.
- ILYALETDINOV, A.N. (1965). Sulphate-reduction in flooded soils of the Kzyl-Ordin region. Ser. Biol. Nauk. n° 2, 15-19.
- IVANOFF, S.S. (1948). Chlorosis and nodulation of cowpeas as affected by trial sulphur applications to calcareous soils in the greenhouses. Plant Physiol. 23, 162.
- JACQ, V. y DOMERGUES, Y. (1970). Sulphato-réduction rhizosphérique et spermosphérique. Influence de la densité apparente du sol. C.R. Acad. Agric. 8, 511-516.
- JAEGER, H.J., PAHLICH, E. y STEUBING, L. (1972). Effects of sulphur dioxide on the amino-acids and protein content of pea seedlings. Angew Bot. 46(3-4), 199-211.
- JENSEN, J. (1963). Some investigations on plant uptake of sulphur. Soil Sci. 95, 63-68.
- JOFFE, J.S. y McLEAN, H.C. (1922). A note on oxidation of sulphur in Oregon soils. Soil Sci. 14, 217-221.
- JORDAN, H.V. y REISENAUER, H.M. (1957). "Sulphur and soil fertility". The year book of Agriculture. Depart. of Agric. Washington, D.C. 107-111.
- JORDAN, H.V. y BARDSLEY, C.E. (1958). Response of crops to sulphur on southeastern soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 22, 254-256.
- JORDAN, J.V. y BAKER, G.O. (1959). Sulphur studies in North Idaho soils using radiosulphur. Soil Sci. 88, 1-6.
- JUNGE, Chr. (1972). Sulphur supplies of atmospheric origin. Ann. Agron. n° hors serie, 235-248.
- JORDAN, H.V. y ENSMINGER, L.E. (1958). The role of sulphur in soil fertility. Adv. in Agron. 10, 407-434.

- JUSTICE, O.L. (1952). Agriculture Handbook(U.S.Department of Agriculture) n° 30, 89-90.
- KAMPRATH, E.T. (1972). Possible benefits from sulphur in the atmosphere. Combustion 44(4), 16-17.
- KAMPRATH, E.J., NELSON, W.L. y FITTS, J.W. (1956). The effects of pH sulphate and phosphate concentrations on the adsorption of sulphate by soils. Soil Sci. Soc.Amer.Proc. 20, 463-466.
- KASHIRAD, A. y BAZARGAIN, J. (1972). Effects of sulphur on pH and availability of phosphorus in calcareous / soils, influence of sulphur and nitrogen on yield and chemical composition of corn. Z, Pflanzenernaehr.Bodenk. 131(1), 6-13.
- KELLY, D.P. (1967). Problems of the autotrophic microorganism. Sci.Progr.London, 55(217), 35-51.
- KELLY, D.P. (1972). Transformations of sulphur and its compound in soils. Ann.Agron. n° hors Serie, 217-232.
- KEMMLER, G. (1972). Sulphur supply to soils through potash fertilizers. Ann.Agron. n° hors serie , 295-306.
- KIRKBY, E.A. (1970). The effect of sulphur deficiency on the ionic balance and nitrogen metabolism on white mustard plants supplied with nitrate or ammonium nitrogen. Agrochimica XIV (5-6), 545-556.
- KITTAMS, H.A. (1963). Use of sulphur for increasing the availability of phosphorus in rock phosphate. Ph.D. thesis Univ. of Wisconsin.
- KOEHLER, F.E. (1965). Sulphur fertilization in Eastern Washington. Proc. 16th Annual Fertilizer Conference of the Pacific Northwest.
- KROL, M. MALISZEWSKA, W. y SINTA, J. (1972). Biological activity of soils strongly polluted with sulphur. Pol. J. Soil Sci. 5(1), 25-33.
- KUHN, H. y FALLER, N. (1972). SO₂ in the atmosphere and its role in sulphur nutrition of plants. Ann.Agron. n° hors serie, 265-274.

- LACHICA, M. y MONTESINOS, R. (1961). Sobre la determinación de materia orgánica en los suelos. Anal. Edaf. y Agrob. XX(4), 169-175.
- LACHICA, M. (1964). Determination of sulphur in plant material. The Analyst. 89, 61-66.
- LACHICA, M., RECALDE, L. y ESTEBAN, E. (1965). Analisis / foliar. Metodos analiticos utilizados en la Estación Experimental del Zaidin. Ann. Edaf. y / Agrob. XXIV(9-10), 589.
- LEES, H. (1955). Biochemistry of autotrophic bacteria. Butterworths Scientific Publications, London.
- LEES, H. y QUASTEL, J.H. (1947). Biochemistry nitrification in soil. II The site of soil nitrification. Biochem.J. 40, 815-823.
- LEVITSKY, S.L. (1968). Sulphur a new abundance? Paper presented at the Soc. of Chemical Industry. Agric. Group London, Oct., 15.
- LEWIS, G.N. y RANDALL, M. (1923). Thermodynamics and the free energy of chemical substance. McGraw Hill Book Co., Inc. New York and London.
- LI, P. y CALDWELL, A.C. (1966). The oxidation of elemental sulphur in soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 30, 370-372.
- LICHTENWALNER, D.E., FLENER, A.L. y GORDON, N.E. (1923). Soil Sci. 15, 157-165 (citado por Jordan, et al. 1958, Adv. in Agron. 10, 407-434).
- LINSER, H. (1967). Die Versorgung der Pflanzen mit Schwefel. Kali-Briefe, Fachgebiet 2, Folge 4, Marz.
- LIPMAN, J.G., McLEAN, H.C. y LINT, H.C. (1916). Sulphur / oxidations in soils and effect on the availability of mineral phosphate. Soil Sci, 2, 499-534.
- LOCASCIO, S.J. y FISKELL, J.G.A. (1971). Sulphur coated / fertilizers in watermelon production. Sulphur Inst. J. 7(1), 7-10.

- LOTTI, G. y GALOPPINI, C. (1964). Lo zolfo nei della zona boracifera toscana. 5º Symposium Internazionale Agrochimica Palermo. 234-244.
- LUDWICK, A.E. (1964). Manganese availability in manganese-sulphur granules. M.S. thesis Univ. of Wisconsin.
- LUNT, O.R. (1967). Sulphur-coated urea a slow release fertilizers. Sulphur Inst.J..
- MACURA, J. y KUNG, F. (1965). Continuous flow method in microbiology. V Nitrification. Folia Microbiol.10, 125-135.
- MANN, L.D., FOCHT, D.D., JOSEPH, H.A. y HOLZY, L.H. (1972). Increased denitrification in soils by addition of sulphur as an energy source. J.Environ Qual. 1(3), 329-332.
- MARTIN, W.E. (1965). The growing importance of sulphur fertilization in California. Sulphur Inst.J. 8-10.
- MARTIN-PREVEL, P. (1972). Sulphur needs and uptake of various tropical crops. Ann. Agron. nº hors serie 81-99.
- MARTIN, W.E. y WALTER, T.W. (1966). Sulphur requirements / and fertilization of pastures and forage crops. Soil Sci. 101(4), 248-257.
- MAYS, D.A. y TERMAN, G.L. (1969). Response of coastal bermudagrass to nitrogen in sulphur-coated urea, urea and ammonium nitrate. Sulphur Inst.J. 7-10.
- McCREADY, C.W.R. (1969). Effect of sulphur application to the soil in the control of some tuber diseases. Proc.Brit.Insectic.Fungic Cong 4th. 1, 303-308.
- McHARGUE, J.S. y PETERS, A.M. (1921). The removal of mineral plant food by natural drainage waters. Ky. Agri.Exp.Sta.Bull. 237.
- McKELL, C.M. (1965). Effects of a Mediterranean-type environment sulphur on nutrition of annual forage legumes. Paper presented at the International Grassland Congress. Brasil.

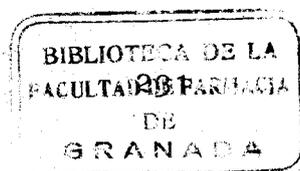
- MackINNEY, G. (1941). Absorption of lighth chlorophyll solutions. J. Biol. Chem. 140, 315-322.
- McLAREN, A.D. (1963). Biochemistry and Soil Science. Science 141, 1141-1147.
- MATTSON, S. (1927). Proc. Intern. Congr. Soil Sci. 1st / Congr. Comm. II 199-211. (citado por Jordan, et al., 1958 Adv. Agron. 10, 407-434.
- MERTZ, E., SINGLETON, V.L. y GAREY, C.L. (1952). The effect of sulphur deficiency on the amino acids of alfalfa. Res. Biochem. Biophys. 38, 139-145.
- MICHAEL, G. (1943). Changes of sulphur in the soils. Boden. Pflanzenernahr 33, 1-18.
- MOORE, S. y STEIN, W.H.J. (1951). Anal. Chem. 192, 663.
- NEEDHAM, J.W. y HAUGE, S.M. (1952). Effect of sulphur fertilization on the vitamins content of alfalfa. Soil Sci. 76, 265-271.
- NELSON, L.E. (1964). The effect of pH on the acetate-soluble sulphur content of a mayhew soil in Mississippi before and after incubation. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 28, 290-291.
- NETOLIZKY, H.J. y SKOROPED, W.P. (1971). Effect of sulphur compounds on Appressorium formation by Colleotrichum sp. Can. J. Plant Sci. 51, (1), 49-51.
- NEWTON, J.D., BENTLEY, C.F., TOOGOOD, J.A., y ROBERTSON, J. A. (1959). Grey-wooded soils and their management. Univ. Alta. Bull. No 21 (Rev),
- NOMMIK, H. (1959). Fixation and defixation of ammonium in soils. Acta Agri. Scand, 7, 395-436.
- NYBORG, M. y BENTLEY, C.F. (1971). Sulphur deficiency in rapeseed and cercal grains. Sulphur Inst. J. 7 (3), 11-14.
- ODELEIN, M. (1966). Sulphur and crop quality. Sulphur Inst. J. (2), 13-14.

- OKE, O.L. (1967). The sulphur content of nigerian manures. *Expl.Agric.* 3, 322-326.
- OKE, O.L. (1968). Sulphur nutrition of legumes. *Expl. Agr.* 5, 111-116.
- OKE, O.L. (1970). Mineralization of soil nitrogen. *J.Indian Soc. Soil Sci.* 18(3), 297-301.
- OLSEN, C. (1935). Iron adsorption and chlorosis in green plants. Quoted from *Advan. Agron.* 13, 333.
- PAECH, K. y TRACEY, M.J. (1956). Modern methods of plant analysis. Springer Verlag Berlin-Gottingen-Heidelberg.
- PLATOU, J. (1969). Sulphur an important plant nutrient. *Indian Chem.Mjg.Ann.* No.1969, 77-80.
- PARKER, C.D. y PRISK, J. (1953). The oxidations of inorganic compounds of sulphur by various sulphur bacteria. *J.Gen.Microbiol.* 8, 344-364.
- PARR, J.F. y GIORGANO, P.M. (1968). Agronomic effectiveness of anhydrous ammonia-sulphur-solutions, II. *Soil Sci.* 106, 448-455.
- PATHAK, A.N. y BHARDWAJ, S.P. (1968). Note on role of sulphur in the nutrition of berseem (*Trifolium alexandrinum*). *Ind.J.Agric.Sci.* 38, 1028-1031.
- PAULING, L. (1959). General chemistry, an introduction to descriptive chemistry and modern chemical theory. W.H.Freeman and Co., San Francisco, Califor.
- PECK, H.D.Jr. (1962). Comparative metabolism of inorganic sulphur compounds in microorganisms. *Bacteriol. Rev.* 26, 67-94.
- PECK, H.D.Jr. (1968). Energy coupling mechanism in chemolithotrophic bacteria. *Ann.Rev.Microbiol.* 22, 489-515.
- PEDRO, G. y ROBERT, M. (1972). Sulphur containing minerals. *Ann.Agron.nº hors serie*, 137-180.

- PETHIYAGODA, U. y KRISHNAPILLAIS, S. (1970). Mineral nutrition of tea. II Experimentally induced major nutrient deficiency symptoms. *Tea Quart* 41, 107-120.
- PFENNING, N. (1967). Photosynthetic Bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 21, 285-325.
- POCHON, J. (1954). *Manuel Technique d'analyse Microbiologique du sol.* Masson et Cie., Editeurs. Paris.
- POCHON, J. y TARDIEUX, P. (1962). *Techniques d'analyse en Microbiologie du sol.* Edition de la Tourrelle.
- POSTGATE, J.R. (1965). Recent advances in the study of the sulphate reducing-bacteria. *Bac. Rev.* 29(4), 425-441
- POSTGATE, J.R. (1968). Sulphur cycle. *Inorg.Sulphur Chem.* 259-276.
- POSTGATE, J.R. (1969). Viable counts and viability. In *methods in Microbiology.* 1, 611. Ed. Norris-Ribbons. London and New York:Academic Press.
- PUMPHREY, F.V. (1963). Sulphur and phosphorus fertilization of alfalfa and clover in northeast Oregon. *Agric.Exp.Sta.Inf.Circ.* 619.
- QUASTELL, J.H., HEWITT, E.J. y NICHOLAS, D.J.D. (1948). The control of manganese deficiency in soil. I.- The effects of sulphur and thiosulphates on crops growing in manganese-deficient soil. *J. Agric.Sci.* 38, 315-322.
- RADET, E. (1966). Sulphur requirements of various crops. *Sulphur Inst.J.* 2(1), 11-15.
- RANDALL, P.J. (1969). Restoration of protein level in detached leaves by supply of sulphate. *Plant Soil* 31(2), 385-388.
- RASMUSSEN, K. (1961). Transformation of inorganic sulphur compounds in soil. *Udgivet af Studerendes Rad Ved Den Klg. Veterinaer OG Landbjskole, Kobenhavn.*

- RECALDE, L. (1971). Comunicación personal.
- RECALDE, L. y MARTIN, E. (1968). Efecto en la cosecha de la aplicación de azufre pulverizado sobre las hojas de olivo durante el periodo de floración. II Coloquio Europeo y Mediterraneo. Sevilla. 235-241.
- REHM, G.W. y SORENSEN, R.C. (1974). Effects of the applications of phosphorus, potassium and sulphur to alfalfa grown on a calcareous silt loam. Soil Sci. 117(1), 58-66.
- REPORT, (1956). The bacteriological examination of water supplies. Rev. Publ. Hlth. Med. Subj. London, n^o 71, 3rd ed. London, H.M.S.O.
- RINDT, D.W., BLOUIN, G.M. y GETSINGER, J.R. (1971). Sulphur-coating on nitrogen fertilizer to reduce dissolution rate. Agric. and Food Chem. 16(5), 773-778.
- ROBINSON, E. y ROBBINS, R.C. (1970). Final report SRI Project PR-6755 Stanford Res. Inst. Mento Parck. California (citado por Junge, Chr. Ann. Agron. n^o hors serie 1972).
- ROGERS, C.H. y SHIVE, J.W. (1932). Factors affecting iron distribution in plants. Plant Physiol. 7, 227-252.
- ROLLIER, M. y FERRIF, J.P. (1969). Le colza et le soufre. Oleagineux 24(8-9), 491-496.
- ROSS, F.F. (1971). What sulphur dioxide problem. Combustion 43(3), 6-11.
- ROY, A.B. y TRUDINGER, P.A. (1970). The biochemistry of Inorganic Compounds of sulphur. Cambridge University Press.
- RUDOLFS, W. (1922). Sulphur oxidation in "Black Alkali" / soils. Soil Sci. 14, 135-146.
- SAALBACH, E. (1965-66). The influence of the sulphur on the yield of forage crops in West Germany. Sulphur Inst. J. Winter.

- SAALBACH, E. (1966). Sulphur fertilization and protein quality. Sulphur Inst.J. 2(3), 2-5.
- SAALBACH, E., KESSEN, G. y JUDEL, G.K. (1961). Uber den / Einfluss von Schwefel auf den Ertrag und die Eiweissqualität von Futterpflanzen. Z.Pflanzenernahr.,Dung.,Bodenkunde 93(138), 17-26.
- SASAKI, T. OTSUKA, I. (1912). Experimentalle Untersuchungen uber die schwefelwasserstoffentwicklung der Bakterien aus cystin und sonstigen schwefelverbindungen. Biochm. Ztschr. 39, 208-215.
- SCHELL, W.R. y JORDAN, J.V. (1959). Anion-exchange studies of pure clays. Plant and Soils 10, 303-318.
- SCRIMSHAW, N.S. y BEHAR, M. (1961). Protein malnutrition in young children. Science 133, 2039.
- SEIM, E.C., CALDWELL, A C. y REHM, G.W. (1969). Sulphur - response by alfalfa (*Medicago sativa* L.) on a sulphur-deficient. Soil Agron.J. 61, 368-371.
- SEN GUPTA, M.B. y CORNFIELD, A.H. (1964). Effect the four acidifying materials added to a calcareous soil on the availability of phosphorus to rye-grass. Plant Soil 21, 388-399.
- SHARMA, G.C. y BRAFORD, R.R. (1973). Effect of sulphur on yield and amino acids of soybeans. Commum. Soil Sci.Plant Anal. 4(2), 77-82.
- SHELDON, V.L., BLUE, W.G. y ALBRECHT, W.A. (1951). Biosynthesis of amino acids according to soil fertility. II Methionine content of plants and the sulphur applied. Plant and Soil 3, 361-365.
- SIMON SILVESTRE. (1960). The sulphur compounds of the soil and their evaluation. Relationships with the microflora. Utilization by plants. Ann.Agron.II (3), 309-330.
- SIMON-SILVESTRE, G. (1967). Further observations on the yearly cycle of soil sulphur and soil nitrogen. C,r.hedb. Seanc.Acad.Agric.Fr. 53, 90-96.



- SIMON-SILVESTRE, G. (1972). Le soufre du sol. Son evolution. Ann.Agron. n^o hors serie 181.
- SIMON, R.H. y SCHOLLENBERGER, C.J. (1925). The rate of oxidation of different forms of elemental sulphur. Soil Science. 20, 6.
- SINGH, H.G. (1970). Effect of sulphur in preventing the occurrence of chlorosis in peas. Agron.J. 62(6), 708-711.
- SINGH, H.G. y GUPTA, P.C. (1968). Nature and control of / chlorosis in paddy seedlings on calcareous soils. Ind.J.Agric.Sci. 38(4), 714-719.
- SLUIJMANS, C.M.J. (1970). Der Einfluss von Dungemitteln auf den Kalkzustand des Bodens. Z. Pflanzenern Bodenkunde, 126, 97-103.
- SOWDEN, F.J. (1956). Distribution of amino acids in selected horizons of soil profiles. Soil Sci. 82, 491-496.
- SOWDEN, F.J. (1958). The forms of nitrogen in the organic matter of different horizons of soil profiles. Can.J.Soil Sci. 38, 147-154.
- SPACKMAN, D.H. (1958). Anal. Chem. 30, 1190.
- STAFFORD, D.A. y CALLELY, A.G. (1969). Utilization of thiocyanate by a heterotrophic bacterium. J.Gen. Microbiol. 55(2), 285-289.
- STARKEY, R.L. (1956). Transformations of sulphur by microorganisms. Ind. and Chem. 48, 1429-1437.
- STARKEY, R.L. (1966). Oxidations and reductions of sulphur compounds in soils. Soil Sci. 101(4), 297-303.
- STEVENSON, I.L. (1956a). Some observations on the microbial activity in remoistened air dried soils. Plant Soil 8, 170.
- STEVENSON, J.L. (1956b). Isolation and identification of some amino compounds in soils. Soil Sci.Soc.Amer. Proc. 20, 201-208.

- STEWART, B.A. (1966). Nitrogen-sulphur relationships in plant tissues plant residues and soil organic matter. Comm. II y IV Int. Soc. Soil Sci. Aberdeen.
- STEWART, B.A., PORTER, L.K. y VIETS, F.G. Jr. (1966). Effect of sulphur content of straws on rates of decomposition and plant growth. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 30, 355-358.
- SWABY, R.J. (1962). Effect of microorganism on nutrient / availability. Int. Soil Conf. New Zeland, 159-172.
- SWABY, R.J. y SHERBER, J. (1958). Phosphate-dissolving microorganisms in the rhizosphere of legumes. Nutrition of legumes Proc. Univ. Nottingham fifth Easter Sch. Agric. Sci. 289-297.
- SWABY, R.J. y VITOLINS, M.I. (1968). Sulphur oxidations in Australian soils. Trans. 9th Int. Congr. Soil Sci. 673-681.
- TAKAI, Y. y ASAMI, T. (1962). Formation of methyl mercaptan in paddy soils. Soil Sci. and Plant Nutrition. 8(3), 132-137.
- TARR, H.L.A. (1933). The enzymic formation of hydrogen sulphide by certain heterotrophic bacteria. Bioch. J. 27, 1869-1874.
- THOMAS, M.D. y HENDRICKS, R.H. (1943). The utilization of sulphate and sulphur dioxide for the sulphur / nutrition of alfalfa. Plant Physiol. 345-371.
- THOMAS, M.D., HENDRICKS, R.H., COLLOI, T.R. y HILL, G.R. (1944). Some chemical reactions of sulphur dioxide after absorption by alfalfa and sugar beets. Plant Physiol. 212-226.
- THOMAS, M.D., HENDRICKS, R.H. y HILL, R.G. (1950). Sulphur metabolism in alfalfa. Soil Sci. 70, 19-26.
- THOMAS, M.D. y HILL, G.R. (1935). Absorption of sulphur / dioxide by alfalfa and its relations to leaf injury. Plant Physiol. 10, 291-307.

- TIMAR, E. (1965). Effect of organic matter on sulphate reduction occurring in alkali soils. *Suppl. Agrökem. Talajt* 14, 195-198.
- TIMAR, M. y PATKAI, T. (1967). Investigations on the ecological factors affecting biological soda formation in soils. *Agrokem. Talajt.* 16, 152-160.
- TISDALE, S.L. (1968). Sulphur as a fertilizer. *New Fertilizer Materials*. Noyes Development Corporation, Parck Ridge N.J. USA.
- TISDALE, S.L. (1971). Why marked fertilizer sulphur? *Marketing Fert. Sulphur*. The Sulphur Inst.
- TISDALE, S.L., DAVIS, R.L. KINGSLEY, A.F. y MERTZ, E.T. / (1950). Methionine and cystine content of two strains of alfalfa influenced by different concentration of the sulphate ion. *Agron.J.* 42, / 221-225.
- TISDALE, S.L. y NELSON, W.L. (1966). *Soil fertility and / fertilizers*. The McMillan Co., New York. Collier-McMillan Ltd., London Second Edition.
- TROCME, S. (1972). Sulphur contents of European soils. *An. Agron. n° hors serie*, 103-112.
- TROROP, J.T. (1972). Soil sulphur application. A new approach. *Sulphur Inst.J.* 8(4), 16-17.
- TRUDINGER, P.A. (1961). Thiosulphate oxidation and cytochromes in *Thiobacillus X. 2*. Thiosulphate-oxidizing enzyme. *Biochem.J.* 78, 680-
- TRUDINGER, P.A. (1964). The effects of thiosulphate and / oxygen concentration on tetrathionate oxidation by *Thiobacillus X* and *Thiobacillus thioparus*. *Biochem.J.* 90, 640-646.
- TRUDINGER, P.A. (1965). Effect of thio-binding reagents on metabolism of thiosulphate and tetrathionate / by *Thiobacillus neapolitanus*. *J. Bacteriol.* 89, 3.

- TRUDINGER, P.A. (1967). The metabolism of inorganic sulphur compounds. by Thiobacily. Rev.Pure Appl. Chem. 17, 1-24.
- TRUDINGER, P.A. y JONES, H.E. (1969). Beas Becking Geobiological Laboratory. Report 1968-1969(Camberra).
- TSERLING, V.V. y EROFEEV, A.A. (1972). Effect of the sulphur nutrition level on the formation of the yield of cereals legumes and cruciferas. Agron. 7 Miya. 4, 74-84.
- TURRELL, F.M. (1950). A study on the physiological effects of elemental sulphur dust on citrus fruits. Plant Physiol. 25, 14-62.
- TURRELL, F.M. y SCOTT, J. (1951). Effect of elemental sulphur dust growth of citrus leaves and its relations to buffer capacity of the leaf-tissue fluid. Am.J.Botany 38, 564-566.
- TURRELL, F.M. y WEBER, J.R. (1955). Elemental sulphur dust a nutrient for lemon leaves. Science 122, 119-120.
- VAVRA, J.P. y FREDERICK, R.L. (1952). The effect of sulphur oxidation on the availability of manganese. Soil Sci.Soc.Amer.Proc. 16, 141-144.
- VEJMA, K.C.W. (1962). Some notes regarding the function of the sulphate-anion in the metabolism of soil producing plants, especially oils palms. Potash Tropi.Agric. Part.II 5(4).
- VIEL, G. y LEROUX, P. (1972). Sulphur supplied by pesticides. Ann. Agron.nº hors serie 257-264.
- VITOLINS, M.I. y SWABY, R.J. (1967). Ecology of sulphur oxidizing and reducing microorganisms in soil. Geobiological Symposium Camberra.
- VITOLINS, M.I. y SWABY, R.J. (1969). Activity of sulphur / oxidizing microorganism in some Australian soils. Aust.J.Soil Res. 7, 171-187.

- VITOSH, M.L. (1972). Red kidney beans respond to sulphur in Michigan. *Sulphur Int.J.* 8, 17.
- VOILLIOT, S.P. (1971). Oxidation of sulphur a sulphate in soil. *Bull.de l'Asociation Franc.por l'etude du sol n° 1*, 15-21.
- WALSH, L.M. y HOEFT, R.G. (1971). Survey of sulphur needs on alfalfa. *Proc.Wisc.Fert.Aglime.Conf.Madison Wisc.* 11-16.
- WALTER, T.W. (1957). The sulphur cycle in grassland. *Soils J.Brit.Grassland Soc.* 12(1), 10-18.
- WALTER, T.W. (1964). The use of sulphur as a fertilizer. *Agrochimica IX* 1-14.
- WEIR, R.G., BARKUS, B. y ATKINSON, W.T. (1963). The effect of particle size on the availability of brimstone sulphur to white clover. *Aust.J.Exp.Agric.and An.Husb.* 3, 314-318.
- WHITE, J.G. (1959). Mineralization of nitrogen and sulphur deficient soils. *New Zeland J.Agrc.Research* 2, 255-258.
- WHITEHEAD, D.C. (1964). Soil and plant nutrition aspect of the sulphur cycle. *Soils and Fertilizers* 27, 1-8.
- WILLIAMS, C.H. (1967). Some factors affecting the mineralization of organic sulphur in soils. *Plant Soil* 26(2), 205-223.
- WILLIAMS, C.H. (1968). Seasonal fluctuations in mineral / sulphur under subterranean clover pasture in southern New South Wales. *Austr.J. Soil Res.* 131, 139.
- WILLIAMS, C.H. (1973). Sulphur deficiency in Australian. *Sulphur Inst.J.* 8(3), 5-7.
- WILLIAMS, E.G., SCOTT, N.M. y McDONNARD, M.J. (1958). Soil properties and phosphate absorptions. *J.Sci. Foo Agric.* 9, 551.

- WILLIAMS, C.H. y STEINBERGS, A. (1962). The chemical nature of sulphate in some Australian soils. *Plant and Soil* 17, 279-294.
- WOOD, R.A. (1966). Nitrification in relation to pH: its importance in fertilizer nitrogen utilization by cane in some sugar belt soils. *Proc, Annu. Congr. S. Agri. Sugar Technol.* 40, 241-246.
- WOODING, F.J. (1970). Growth chamber and field experiments with plant nutrient sulphur. *Agronomy* 31(3), / 1020-1021.
- WOODING, F.J. PAULSEN, G.M. y MURPHY, L.S. (1971). Sulphur composition of soybeans as affected by light and temperature. *Soil Sci and Plant Analysis.* 2(5), 353-362.
- ZAHN, R. (1961). Wirkungen von Schwefeldioxyd auf die vegetation. Ergebnisse aus Begasungsversuchen. *Sta ub* 21, 56-60. (citado por Kuhn, et al., 1972 *Ann. Agron.* n° hors serie).

FE DE ERRATAS

<u>Pág</u>	<u>Linea</u>	<u>Dice</u>	<u>Debe decir</u>
17	35	Aroka	Arora
18	29 y 35	Aroka	Arora
18	36	Venema, 1961	1962
21	27	Freeman	Freeman, et al.
21	38	Tserling	Tserling, et al.
23	31	Gupta	Singh
30	17	Freney, 1957	1967a
31	7	Berg	Berg, et al.
31	19	Alymore	Alymore, et al.
32	11	Williams	Williams, et al.
33	4	Dawson, 1959	1969
38	1	Barrow, 1961	1961a
46	16	Freney, 1967	1967a
47	6	Halberg	Hallberg
47	22	Ambrozva	Ambrozova
47	26	sulforeducción	sulfatorreduc- ción.
91		Relación entre el NMP de sulfooxidantes.	Relación entre el NMP de sulfo oxidantes x 10 ²
108		Tratamiento 2	Tratamiento 1