

## RECICLADO BACTERIANO DE NUTRIENTES EN LOS SEDIMENTOS DEL LAGO DEL PARQUE GRAL. BELGRANO (SANTA FE, ARGENTINA) \*

Federico Emiliani  
Instituto Nacional de Limnología  
J. Maciá 1933 - (3016) Sto. Tomé, S. Fe

### RESUMEN

Se describen las fluctuaciones estacionales de la población bacteriana en un cuerpo de agua eutrófico. Se citan, además, los principales aspectos abióticos y bióticos de los sedimentos. En base a estos datos, se apreció una mineralización de  $2,2 \times 10^{-5}$  y de  $6 \times 10^{-6}$  mg/1/día de N y P, respectivamente. Se concluye afirmando la existencia de un desequilibrio trófico: los nutrientes se acumulan en exceso con respecto a la posibilidad de reciclado anual bacteriano. Este desequilibrio sucede debido a que los factores abióticos imperantes limitan la población bacteriana y, por consiguiente, resulta insuficiente para la degradación de los animales y vegetales sintetizados durante las estaciones del año.

### SUMMARY

*Bacterial recycling of nutrients in the sediments of "Lago del Parque General Belgrano" (Santa Fe, Argentina).*

The seasonal fluctuations of a bacterial population from an eutrophic pond are described. Furthermore, the main biotic and abiotic aspects of the sediments are cited. On the basis of obtained data, the mineralization was estimated in  $2.2 \times 10^{-5}$  and  $6.0 \times 10^{-6}$  mg/1/day of N and P, respectively. The existence of a trophic unbalanced conditions was confirmed: nutrients are accumulated in excess with respect to the possibility of a bacteria-induced annual recycling. This lack of equilibrium is due to abiotic factors, limiting the bacterial population. Further, this population is not sufficient for the degradation of the animals and vegetation synthesized during the seasonal cycle.

\* Trabajo realizado gracias a una Beca otorgada por el CONICET. Presentado en la Reunión de Comunicaciones Científicas del 26/XI/76 y en el Primer Congreso Nacional de Microbiología (Bs. As., Arg.) como parte integrante del panel sobre Ecología Microbiana.

## INTRODUCCION

Debido al problema creado por el desarrollo masivo de cianobacterias ("algas verde-azules") en el Lago del Parque Gral. Belgrano, utilizado como balneario en la ciudad de Santa Fe, se originaron diversos estudios (ver bibliografía en Emiliani, 1976) tendientes a dilucidar las características tróficas de esas aguas, para luego tratar de establecer las posibilidades de su mejoramiento. Este trabajo forma parte de esa serie de estudios y también fue realizado en función de los objetivos antedichos.

## MATERIAL Y METODOS

El muestreo de agua y sedimento se realizó en la estación más profunda del Lago (ver mapa batimétrico en Emiliani, 1976) y las técnicas fueron las comúnmente empleadas por el autor (Emiliani y Rodríguez, 1975). Gracias a que el cuerpo de agua se halla muy próximo a nuestro laboratorio, las muestras pudieron ser analizadas antes de que transcurrieran 60-90 minutos desde el momento de muestreo. Para los recuentos, se empleó el PCA (Oxoid, 1971) y también agua de lago más el agregado de agar muy puro ("Noble"-D.fco, 1968). Los análisis químicos de los sedimentos se realizaron con los procedimientos habitualmente empleados en los análisis de suelos (Jackson, 1970); el pH y rH se determinaron mediante un equipo portátil ("Radiometer") y de acuerdo a las sugerencias de Rodina (1972); la densidad de las diferentes capas de sedimento se apreció pesando un determinado volumen de material recién extraído con los sacatestigos tubulares de plástico acetato-burrato, esterilizados previamente con alcohol etílico y radiaciones UV durante 12 hs. El número de bacterias por gramo de sedimento seco ( $N^{\circ}$ ) se calculó mediante las siguientes fórmulas:

$$N^{\circ} = N_h \times 100 / (100 - H_1) \quad \text{o bien} \quad N^{\circ} = N_h \times (100 + H_2) / 100$$

siendo  $H_1$  y  $H_2$  el porcentaje de humedad por ciento de sedimento seco, respectivamente;  $N_h$  es el número de bacterias por gramo de sedimento húmedo.

## RESULTADOS

### Aspectos abióticos.

Los cuadros 1 y 2 reflejan las características químicas y físicas del sedimento. Cualitativamente, es interesante destacar el intenso olor a sulfhídrico que desprendían los sedimentos recién extraídos; además, eran de color negro con diversos puntos de color azul-verdoso que, al microscopio, resultaron ser colonias de *Microcystis aeruginosa*. También en forma cualitativa se apreció que las muestras tenían un elevado contenido de hierro.

Estudiando los mencionados cuadros, se deduce que esos sedimentos constituyen un *hábitat* muy adecuado para los anaerobios facultativos y obligados. Las características ambientales permiten, a la microflora involucrada, la formación de  $SH_2$ ,  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $Fe^{++}$  y  $Mn^{++}$  y la desaparición de los  $NO_3^-$ .

En el cuadro 3, los sedimentos sobresalen como una importante fuente de nitrógeno (N) y se demuestra que el N necesario para el desarrollo algal debe provenir de otro lugar además del que está presente en el agua (p.ej., desagües, lluvias, lavado de suelos, fijación de  $N_2$  por cianofitas, liberación desde los sedimentos, etc.).

CUADRO 1. Análisis químicos y físicos de los sedimentos del Lago del Parque Gral. Belgrano, en porcentaje de sedimento seco. Referencias: (1) = % de agua referido a sedimento húmedo y (2) = % de agua referido a sedimento seco; — = datos no obtenidos.

Profundidad (cm)	0 - 1	1 - 6	6 - 12	más de 12
Materia orgánica (g%)	5,7	3,9	2,4	2,2
Carbono (g%)	3,12	2,19	1,31	1,19
Nitrógeno (g%)	0,406	0,265	0,176	0,144
Fósforo (g%)	0,05	0,07	0,06	0,05
Humedad (1)	79,5	74,7	52,7	44,3
Humedad (2)	400	300	100	79
pH	7,6	—	—	—
Eh (mV)	-165	—	—	—
rH	9,7	—	—	—
PE	2,8	—	—	—
Densidad	1,4	1,4	1,4	1,5

CUADRO 2. Relaciones entre los nutrientes de los sedimentos del Lago del Parque Gral. Belgrano.

Profundidad (cm)	Materia orgánica, % con respecto a la muestra	Contenido en					
		C	N como %	P de la materia orgánica	C/N	N/P	C/N/P
0 - 1	5,7	55	7	0,88	8	8	63/8/1
1 - 6	3,9	55	6,9	1,8	8	4	31/4/1
6 - 12	2,4	55	7,5	2,5	7	3	22/3/1
más de 12	2,2	55	6,4	2,3	9	3	24/3/1

CUADRO 3. Distribución del nitrógeno en el Lago del Parque Belgrano. Referencias: (\*) = calculado en base a los datos de carbono particulado (Apesteguía *et al.*, 1974) y con los porcentajes correspondientes de nitrógeno en el fito y zooplancton (Khan y Siddiqui, 1971b) (\*\*\*) = cálculo realizado a partir de los datos de nitrógeno inorgánico ( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ ) publicados en el primer trabajo citado.

Compartimentos	Nitrógeno	
	Kg / lago	% del total
Sedimento (1 cm)	1200	70
Plancton (*)	282	16,5
Agua (***)	232	13,5

## Aspectos bacteriológicos.

En el cuadro 4 se representa el número de bacterias a distintas profundidades y en la figura 1 la distribución vertical de las bacterias coliformes.

CUADRO 4. Número de bacterias y porcentajes de coliformes durante el verano en las aguas del Parque Gral. Belgrano.

Muestra de:	Profundidad	Nº de colonias x 10 <sup>3</sup>	% de coliformes x 10 <sup>-3</sup>
agua	0 — 0,5 m	55	2
agua	3,5 — 4 m	43	30
agua y sedimento	4,20 m	310	—
sedimento	0 — 1 cm	10000	80
sedimento	1 — 6 cm	12000	4
sedimento	6 — 12 cm	6000	6

La densidad de la población bacteriana en la zona litoral con vegetación arraigada —conocida bajo el nombre de “canutillos” (*Paspalum repens* y *Panicum* sp.)— no difiere mayormente de la pelágica: la primera contiene solamente un 25% más de bacterias; ésto difiere mucho de lo observado en otros ambientes acuáticos (Emiliani, 1977) donde en las zonas costeras predominan los vegetales acuáticos flotantes (de la especie *Eichhornia crassipes* —“camalote”—).

En el agua, la biomasa bacteriana fue relativamente baja (0,01 a 0,001 mg/l). Aún si consideramos que, por lo general, los recuentos por métodos indirectos representan como máximo el 1% de la población real (Overbeck, 1974), eso sólo representaría aproximadamente el 0,5-10% de la materia particulada del Lago. Este hecho hizo prácticamente imposible el recuento por microscopía directa, dificultad aumentada por la abundante presencia de cianofitas unicelulares.

Solamente en tres oportunidades se realizaron recuentos comparativos en los dos medios de cultivo ya mencionados, por lo que, obviamente, no podemos ofrecer conclusiones al respecto. Sin embargo, es necesario señalar que una diferencia muy notable se registró a principios de diciembre, donde los recuentos en PCA cuatuplicaron a los obtenidos en agua de Lago agarizada. En las capas de agua más profundas, en cambio, no se registraron grandes diferencias atribuibles al cambio del medio nutritivo.

El número de bacterias se mantuvo bajo en otoño e invierno (5000 a 8000 colonias por ml) aumentando su concentración en primavera y verano (16000 a 55000 col./ml), según se muestra en la figura 2.

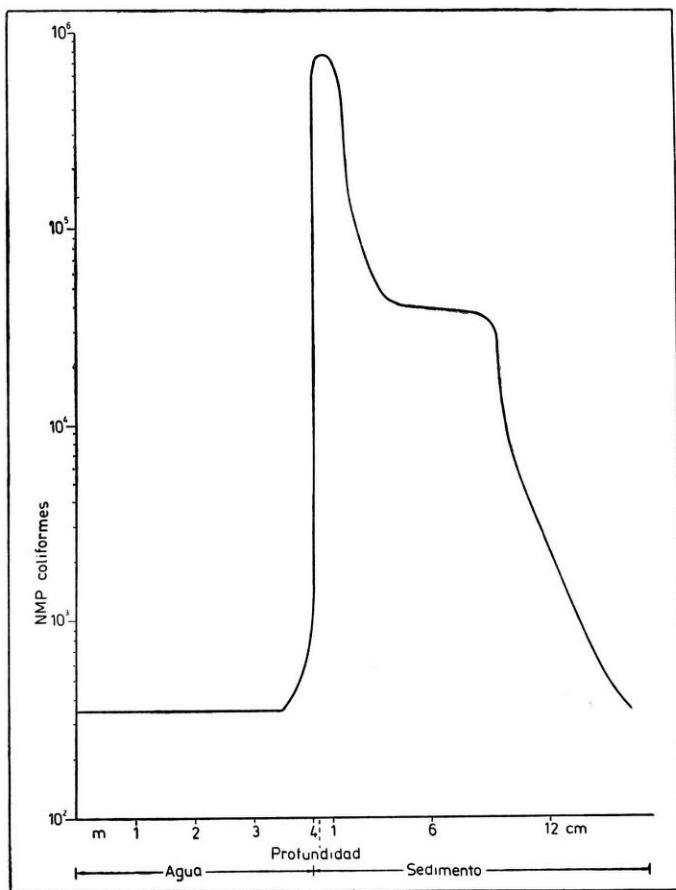


Fig. 1. Número de bacterias coliformes en aguas y sedimentos durante el verano.

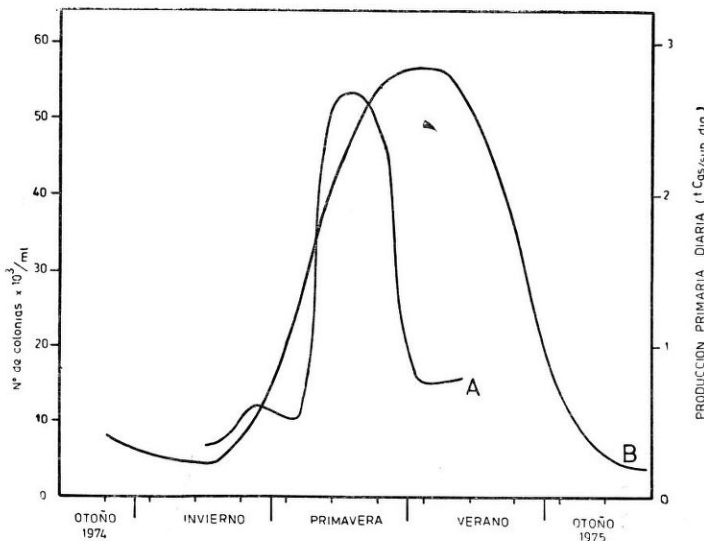


Fig. 2. Variaciones estacionales de la población bacteriana (curva B) y de la producción primaria diaria (curva A).

## DISCUSION

Aunque no hemos encontrado una evidencia directa de que las vacuolas de gas en las bacterias tengan un rol similar al de las algas verde-azules en el Lago, el hecho del súbito aumento numérico (tal como una floración acuática) registrado en los muestreos de fines de primavera y comienzos del verano, coincidente con el "despegue" de las cianofitas desde los sedimentos, sugiere que esa función puede ser similar. Tal como explicara rigurosamente Walsby (1972 y 1974), este mecanismo probablemente sería efectivo o evidente en períodos durante los cuales las aguas permanecen tranquilas o con escasa turbulencia. Otro hecho que apoya esta hipótesis, reside en que —durante el verano— solamente el 27% de las bacterias se pudo desarrollar con la concentración de nutrientes encontrados en el agua superficial, mientras que el 73% restante exigió una mayor concentración, como la que probablemente se encontraba sobre la superficie de los sedimentos antes de abandonarla. El aumento registrado por nosotros no es raro en la literatura mundial; también otros autores (Henrici, 1937; Potter, 1964; Reihardt, 1973; etc.) han encontrado con frecuencia el mayor número de bacterias asociadas con los florecimientos algales. En nuestro caso, dicha asociación se evidencia en la figura 2.

Debido a que los sedimentos de este Lago representan una fuente importante de nutrientes (cuadro 3), su remoción puede ser un medio para revertir o desacelerar la eutrofización de las aguas que lo cubren. Pero previamente debemos desentrañar el rol de los sedimentos en la determinación de la productividad total de estas aguas y para ello es menester estudiar los resultados obtenidos. Como se sabe (Emiliani, 1973), una gran parte de la energía presente en la materia orgánica de los sedimentos no es liberada por los anaerobios y los compuestos incompletamente oxidados, que son excretados, podrán ser utilizados para el desarrollo únicamente si el aire tiene cabida en el biotopo considerado. En los sedimentos estudiados del Lago del Parque Gral. Belgrano, esto último nunca fue posible; consecuentemente, se puede formar un número relativamente menor de células por cada unidad de carbono (C) orgánico degradado. Además, como los microorganismos asimilan menos C por unidad de materia orgánica descompuesta bajo condiciones anaerobias, la demanda de N para la síntesis del protoplasma es menor que cuando el O<sub>2</sub> está presente. Por otra parte, se debe tener en cuenta que el N en los sedimentos es, casi en su totalidad, N orgánico. En el Lago, la fuente principal de este elemento está representada por el plancton y particularmente por las algas, tal como se puede demostrar rápidamente observando al microscopio la capa superficial del sedimento. Además, su análisis químico y sus relaciones (cuadros 1 y 2) son similares a las que Khan y Siddiqui (1971) encontraron en el plancton (con una composición específica coincidente a la del Lago del Parque Gral. Belgrano, tal como se puede comprobar cotejando el trabajo recién citado con los de Apesteguía *et al.*, 1974 y García de Emiliani, 1976).

Teniendo en cuenta las conclusiones de numerosos trabajos publicados (Achayra, 1935; Alexander, 1961; Brock, 1966; Delwiche, 1967; Foree y Mc Carty, 1970; Greenwood y Lees, 1956, 1960 a y b; Guha-Sircar *et al.*, 1940; Haertel, 1972; Jewel 1971; Jemel y Mc Carty, 1968; Porcella *et al.*, 1971; Vallentyne, 1962; Vollenweider, 1968; Williams *et al.*, 1968) sobre la eficiencia que tienen los microorganismos en convertir el C del sustrato en C celular, bajo condiciones ambientales similares a las determinadas para nuestro Lago y la magnitud de su población bacteriana, se puede deducir, mediante sencillos cálculos, que para sintetizar C celular bacteriano en el estrato superior del sedimento, necesitan desde 0,012 hasta 0,030 g de N. La magnitud del N mineralizable está dada, entonces, por las cifras transcritas en el cuadro 5.

CUADRO 5. Nitrógeno orgánico potencialmente mineralizable en las diferentes capas del sedimento.

Profundidad	Nitrógeno mineralizable (%)
0 - 1 cm	0,39 - 0,37
1 - 6 cm	0,26 - 0,24
6 - 12 cm	0,17 - 0,16
más de 12 cm	0,14 - 0,13

Del mapa batimétrico (fig. 2, Emiliani, 1976) y de los cuadros 1 y 2 se puede llegar a pensar que si se mineralizara y solubilizara todo el N presente en el sedimento, se produciría un aumento de N (total), en las capas superiores de agua, de 5 ppm. Sin embargo, para estimar una cifra que nos aproxime más a la cantidad de N realmente liberado desde los sedimentos debemos efectuar cálculos predictivos. Para este propósito resulta correcto suponer que la naturaleza química de los sedimentos que se encuentran sepultados entre 10

y 120 mm de profundidad era semejante a la detectada actualmente en los estratos superiores (cuando aquéllos también lo eran). Esta suposición no está alejada de la realidad si tenemos en cuenta que se trata de un ecosistema prácticamente cerrado. Por otra parte, tomando como velocidades de sedimentación valores extremos tales como 0,5 a 3,5 mm/año se puede admitir que los sedimentos que ahora se encuentran a 120 mm de profundidad se han depositado hace 35 ó 60 años. De esta manera se puede apreciar que, de las 5 ppm, sólo se puede liberar desde el sedimento el 1 ó 2 %. Esto significa, para el volumen del Lago, desde  $1,5 \text{ a } 3 \times 10^{-5} \text{ mg/1/N/día}$ , por esta única vía.

El fósforo (P), como el N, también es mineralizado e inmovilizado. El proceso que predomina está gobernado por diversos factores: entre ellos están los requerimientos nutritivos de la población bacteriana y el porcentaje de P del sustrato. En los sedimentos del Lago del Parque Gral. Belgrano, hay más P que el nivel crítico que sirve como punto de referencia entre la inmovilización y la mineralización (Dommergues y Mangenot, 1970). Los requerimientos nutritivos máximos se señalan en el cuadro 6; tal como se puede observar,

CUADRO 6. Demanda microbiana y oferta de fósforo en los sedimentos, según las diferentes profundidades.

Profundidad (cm)	Demanda microbiana en P (g %)	Demanda (Porcentajes respecto a la oferta)
0 - 1	0,005	10
1 - 6	0,002	4
6 - 12	0,001	2
más de 12	0,001	2

hay un gran exceso de P con respecto al necesario para nuestra población microbiana. Este exceso, que en otras condiciones ambientales podría ser rápidamente mineralizado o solubilizado, en nuestro caso permanece en su mayor parte acumulado e inmovilizado en los diferentes estratos sedimentarios (cuadro 1) debido al relativamente bajo número y escasa actividad específica de los microorganismos que se pueden desarrollar en el biotopo estudiado: aquí también la temperatura actúa como factor limitante pues, si bien la mineralización del P orgánico en ambientes acuáticos es llevada a cabo por bacterias que tienen una temperatura óptima de desarrollo por debajo de los 20°C, la temperatura óptima para la síntesis de fosfatasa (para las mismas bacterias) es cercana a los 36°C (Reihardt, 1973); en suelos emergentes también se llegó a las mismas conclusiones (Alexander, 1961; Dommergues y Mangenot, 1970). Estas observaciones inducen a afirmar que sólo puede pasar a la solución una pequeña cantidad de P metabolizable, aseveración que no contradice los resultados de varios ensayos de laboratorio con P radioactivo (p. ej., Phillips, 1964). También mediante conocidos cálculos aproximativos (Emiliani, 1973) se puede pronosticar, para el Lago, la incorporación de alrededor de  $6 \times 10^{-6} \text{ mg P/1/día}$  proveniente desde los sedimentos. A esta cifra (que es aproximadamente 100 veces inferior a la que se encontró en ensayos de laboratorio —Khan y Siddiqui, 1971), habrá que adicionarle aportes alóctonos imponderables.



## CONCLUSIONES

Se pudo comprobar un desequilibrio trófico: los nutrientes se acumulan en exceso con respecto a la posibilidad del reciclado anual por parte de las bacterias. Este desequilibrio sucede debido a que los factores abióticos imperantes limitan la magnitud de la población bacteriana y, por consiguiente, esa comunidad no es suficiente para la degradación de los animales y vegetales sintetizados durante las diferentes estaciones del año.

## AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar su agradecimiento a las Profesoras María Ofelia García de Emiliani y Cristina Marta por la colaboración prestada.

## BIBLIOGRAFIA

- Achayra, C. N. - 1935. Studies on the anaerobic decomposition of plant nutrients. *Biochem. J.*, 29: 528-541.
- Alexander, M. - 1961. Introduction to soil microbiology. *Wiley & Sons*, New York, 474 p.
- Apesteguía, C.; Marta, J. y García de Emiliani, M. O. - 1974. Floración acuática de algas verde-azules en el Lago del Parque Belgrano. *Temas de salud* (1): 1-20.
- Brock, T. D. - 1966. Principles of microbial ecology. *Prentice Hall*, New Jersey, 308 p.
- Delwiche, C. C. - 1967. Energy relationships in soil biochemistry. En: *Soil Biochemistry* (Mc Laren & Peterson, Eds.). *Marcel Dekker*, N. York.
- Dommergues, Y. y Manganot, F. - 1970. Ecologie microbienne du sol. *Masson*, Paris, 798 p.
- Difco (Lab.). - 1968. Supplementary Literature. *Difco Lab.*, Michigan, 482 p.
- Emiliani, F. - 1973. Evaluación de la actividad microbiana. En: *Estudios limnológicos en la cuenca del Futaleufú*. *INALI*, Sta. Fe.
- Emiliani, F. - 1976. Posibilidades de mejoramiento de las aguas del Lago del Parque Gral. Belgrano. *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Lit.* (7):81-90.
- Emiliani, F. - 1977. Interacciones lenítico-lóticas de las poblaciones bacterianas (inédito).
- Emiliani, F. y Rodríguez, R. C. - 1975. Fundamentos para la adopción de un nuevo concepto metodológico aplicable en los estudios ecológicos que incluyen recuentos en placa de la microflora acuática o terrestre. *Rev. lat-amer. Microbiol.*, 17:207-210.
- Foree, E. G. y Mc Carty, P. L. - 1970. Anaerobic decomposition of algae. *Environment. Sci. Tech.*, 4: 842-849.
- García de Emiliani, M. O. - 1976. Sistemática y variaciones diurnas cuali y cuantitativas del fitoplancton en el Lago del Parque Gral. Belgrano. *Physis*, 35 (90):17-38.
- Greenwood, D. J. y Lees, H. 1956. Studies on the decomposition of aminoacids in soils, I: A preliminary survey of techniques. *Plant Soil*, 7: 253-268.
- Greenwood, D. J. y Lees, H. 1960a. Studies of aminoacids in soils, II: The anaerobic metabolism. *Plant Soil*, 12:69-80.
- Greenwood, D. J. y Lees, H. 1960b. Studies on the decomposition of aminoacids in soils, III: The process of aminoacid aerobic decomposition and some properties of amino acid-oxidizing organisms. *Plant Soil*, 12:175-194.

- Guha-Srcar, S. S.; De, S. C. y Bhowmick, H. D. - 1940. Microbial decomposition of plant materials. *Indian J. Agr. Sci.*, 10:119-151.
- Haertel, L. - 1972. Ecological factors influencing production of algae in northern prairie lakes. *S. D. State Univ. Water Resour. Inst., Completion Rep., Proj. N° A-208-SDAK.*
- Harvey, H.W. 1957. The chemistry and fertility of sea water. *Cambridge Univ. Press, London*, 224 p.
- Henrici, A. T. - 1937. Studies of fresh water bacteria, IV: Seasonal fluctuations of lake bacteria in relation to plankton production. *J. Bacteriol.*, 35:129-139.
- Jackson, M. L. - 1970. Análisis químico de suelos (2ª Ed.). *Omega*, Barcelona, 664 p.
- Jewell, W. J. - 1971. Aquatic weed decay: Dissolved oxygen utilization and nitrogen and phosphorus regeneration. *J. Water Poll. Contr. Fed.*, 43:1475-1467.
- Jewell, W. J. y Mc Carty, P. L. - 1968. Technical report n° 91. Dep. of Civil Engineering, *Stanford Univ.*, California.
- Khan, J.A. y Siddiqui, A.Q. 1971a. Nutrient regeneration from dead freshwater plankton. *Indian J. Exp. Biol.*, 9:57-59.
- Khan, J.A. y Siddiqui, A.Q. 1971b. Water, Nitrogen and Phosphorus in freshwater plankton. *Hydrobiologia*, 37:531-536.
- Overbeck, J. 1974. Microbiology and biochemistry. *Mitt. Internat. Verein. Limnol.*, 20 : 198-228.
- Oxoid. - 1973. The Oxoid Manual of Culture Media (3ª ed.), *Oxoid Ltd.*, London, 266 p.
- Phillips, J. E. - 1964. The ecological role of phosphorus in water with special reference to microorganisms (p. 61-81). En: Principles and applications in aquatic microbiology (Heukelekian & Dondero, Eds.). *John Wiley*, New York, 454 p.
- Porcella, D. B.; Schmalz, K. L. y Luce, W. A. - 1971. Sediment-water nutrient interchange in eutrophic lakes. Proc. Semin. Eutroph. and Biostim., *Univ. Calif.*, Berkeley, California.
- Potter, L. F. - 1964. Planktonic and benthic bacteria of lakes and ponds (p. 148-166). En: Principles and Applications in Aquatic Microbiology (Heukelekian & Dondero, Eds.), *John Wiley*, New York.
- Potter, L. F. y Baker, G. E. - 1956. The microbiology of Flathead and Rogers lakes, Montana, I: Preliminary survey of the microbial populations. *Ecology*, 37:351-355.
- Reihardt, W. 1973. Effect of temperature on the mineralization of organic phosphorus compounds by certain aquatic bacteria. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 18:1277-1286.
- Rodina, A. G. - 1972. Methods in aquatic microbiology. *Univ. Park Press*, Baltimore, 464 p.
- Stumm, W. y Lackie, J.O. 1971. Phosphate exchange with sediments; its role in productivity of surface waters. *Water Res.*, 26:1-6.
- Vallentyne, J. R. - 1962. Solubility and the decomposition of organic matter in nature. *Arch. Hydrobiol.*, 58:423-434.
- Vollenweider, R.A. 1968. Scientific fundamentals of the eutrophication of lakes and flowing waters. *Organisation Economic Cooperation and Development*, Paris DAS/CSI/68.27.
- Walsby, A. E. - 1972. Structure and function of gas vacuoles. *Bacteriol. Rev.*, 36 : 1-32.
- Walsby, A. E. - 1974. The identification of gas vacuoles and their abundance in the hypolimnetic bacteria of Arco Lake, Minnesota. *Microbial Ecology*, 1:51-61.
- Williams, W. A.; Mikkelsen, D. S. y Ruckman, J. E. - 1968. Nitrogen immobilization by rice straw incorporated in lowland rice production. *Plant Soil*, 28 : 49-60.