

36
29



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**EFFECTO DE DIFERENTES BIOCIDAS SOBRE LA
ASOCIACION RHIZOBIUM-LEGUMINOSAS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A :

MARIA ALICIA HURTADO ZAMORA



1988



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE GENERAL

1. **Introducción**
2. **Objetivos**
3. **Generalidades**
4. **Material y Métodos**
5. **Resultados**
6. **Discusión de Resultados**
7. **Conclusiones y Recomendaciones**
8. **Anexo**
9. **Bibliografía**

I N T R O D U C C I O N

I INTRODUCCION

El empleo de biocidas tiene gran importancia por los beneficios que éstos aportan erradicando total o parcialmente las plagas que afectan a los cultivos, durante diferentes etapas de su crecimiento.

Con el empleo de biocidas se evitan graves pérdidas en las cosechas de frijol soja; de ahí que el objetivo de emplear una gran cantidad de ellos anualmente en este cultivo, es el de proteger la producción y mejorar en forma notable la calidad de las cosechas.

El cultivo de frijol soja tiene un gran futuro dentro de la Economía Agrícola, no sólo de México sino a nivel mundial, por dos razones:

- I. Desde el punto de vista de su valor nutricional.
- II. Desde el punto de vista económico.

I. ASPECTO NUTRICIONAL

Por su contenido nutricional, el frijol soja puede substituir satisfactoriamente a la carne, la leche, el queso e incluso el pan de trigo.

Este aspecto es de gran importancia para un país como el nuestro, en el cual las condiciones económicas de una gran parte de la población le impiden tener una alimentación balanceada. Los reportes nutricionales muestran que el frijol soja es una fuente importante de proteína vegetal, que tiene el doble de proteínas que la carne de res, cuatro veces más proteínas que el huevo, el trigo y otros cereales. (Tablas 1.1 y 1.2).

TABLA 1.1 PORCENTAJE DE PROTEINA EN DIFERENTES PRODUCTOS ALIMENTICIOS

PRODUCTO	% PROTEINA
CARNE DE RES	15
CARNE DE CERDO	12
CARNE DE POLLO	20
FRIJOL	24
FRIJOL SOJA	36

(SRIA. AGRICULTURA REP. DOMINICANA 1980)

TABLA 1.2 CONTENIDO DE AMINOACIDOS DE FRIJOL SOJA Y OTROS PRODUCTOS NATURALES

AMINOACIDOS	% MAIZ	% LECHE	% HUEVOS	% CARNE	% FRIJOL SOJA
PROTEINA BRUTA	9.30	5.10	13.70	21.65	45.52
ISOLEUCINA	----	0.22	0.50	1.13	2.65
LEUCINA	4.00	0.34	1.23	1.56	3.65
LISINA	1.40	0.25	1.03	1.96	2.54
METIONINA	0.60	0.10	0.45	0.54	0.65
FENILALANINA	2.16	0.19	0.66	0.91	2.32
TEONINA	1.52	0.18	0.64	0.27	1.95
TRIPTOFANO	0.39	0.05	0.21	0.26	0.52
VALINA	1.50	0.26	0.93	1.15	2.50

(SRIA. AGRICULTURA REP. DOMINICANA, 1980)

II. ASPECTO ECONOMICO

El cultivo de frijol soja se ha incrementado notablemente en nuestro país.

En 1984 se sembraron en el país 370,000 hectáreas, para -- 1986 el área sembrada ascendió a 410,000 hectáreas. (Depto. Agri cultura de la Embajada de E.E.U.U. 1986).

Según los datos señalados en la Tabla 2.1 podemos ver en qué forma se ha incrementado el valor en miles de pesos en la - producción por tonelada de frijol soja en el período 1983-1986. (Anuario Estadístico SPP 1985-1986).

2.2.1 EXPORTACION E IMPORTACION

A. EXPORTACION

Aunque en México ha habido un incremento en la producción de frijol soja, todavía no se llega a satisfacer la demanda de este producto, y en la actualidad se importan grandes cantidades de harina y grano de esta leguminosa.

B. IMPORTACION

La importación de grano de frijol soja fue mayor en el - período comprendido de Enero-Diciembre 1985, con respecto al - período Enero-Diciembre 1986.

(Indicador del Sector Externo 1985-1986).

(Tabla 2.2)

TABLA 2.1 PRODUCCION DE FRIJOL SOJA A NIVEL NACIONAL

1953 - 1956

	SUPERF. TOTAL	CASECHADA (HAS) RIEGO TEMPORAL		RENDIMIENTO T, HA	PRODUCCION T	VALOR (MILES DE PESOS)
1953						
CAMPECHE	1,710	15	1695	---	3,152	27,047
SONORA	14,695	14645	----	3.742	54,795	504,114
SINALOA	68,575	68575	----	2.209	151,490	1'266,456
TAMAULIPAS	13,495	3659	9836	0.860	11,615	59,507
1954						
SINALOA	195,111	186,473	8638	2.047	394,392	4'301,745
SONORA	95,555	95,885	----	2.009	195,745	2'146.475
TAMAULIPAS	46,636	2,557	44099	0.964	44,475	455,545
1955						
CHIAPAS	16,542	---	16542	1.302	21,927	335.453
SINALOA	227,093	227,093	-----	1.613	366,431	5'006.394
SONORA	99,225	99,225	-----	2.113	209,671	321.043
1956						
CHIAPAS	17,253	62	17191	2.240	35,794	3'050,001
SINALOA	153,431	153,431	-----	1.790	329,496	10'590,020
SONORA	127,566	127,576	-----	1.756	224,015	7'309,315
TAMAULIPAS	38,171	4,753	33383	1.435	54,759	1'774,559

(ANUARIO SPP 1955 - 1956)

TABLA 2.2

IMPORTACION DE HARINA Y GRANO DE FRIJOL
SOJA 1985-1986

GRANO	Cantidad Kg.	Valor en Dls.
Enero/Dic./1985	1,070,588	245,939
Enero/Dic./1986	826,535	167,224
HARINA		
Enero/Dic./1985	26,554	5,487
Enero/Dic./1986	73,506	15,827

(INDICADOR DEL SECTOR EXTERNO 1985-1986)

Con los datos citados anteriormente se establece la importancia de realizar investigaciones más profundas sobre los mecanismos que pueden ayudar a mejorar la calidad de las cosechas de frijol soja y aumentar la producción. Un medio bastante eficaz para aumentar la producción de esta leguminosa es por el uso de inoculantes: fertilizantes biológicos que incrementan el rendimiento del cultivo a través de la fijación biológica de nitrógeno.

Los inoculantes son fertilizantes biológicos elaborados a base de microorganismos que pertenecen al género Rhizobium y -- Bradyrhizobium, los cuales contienen bacterias fijadoras de -- nitrógeno que viven en las raíces de plantas leguminosas dentro de unas pequeñas protuberancias llamadas nódulos.

La planta alimenta a esta bacteria y ellas fijan el nitrógeno del aire en beneficio de la planta y del suelo. A esta asociación Planta-Rhizobium se le llama simbiosis mutualista.

Otro medio para obtener mayores rendimientos de frijol soja es el de emplear biocidas, para evitar enfermedades durante las diferentes etapas del crecimiento de la planta.

Anualmente se emplean cantidades enormes de biocidas a nivel internacional; de ahí la importancia de realizar investigaciones sobre los efectos que pueden tener estos sobre la asociación Rhizobium-Leguminosas, en particular del frijol soja.

Por otra parte es importante conocer el efecto desde el punto de vista toxicológico, tienen los biocidas que sobre el hombre, se reporta que cada año alrededor del mundo, en promedio 750,000 gentes sufren intoxicaciones por contacto con biocidas, y al rededor de 14,000 gentes mueren por dicho contacto.

(Chemical Week 1985)

2.2.2 PRODUCCION DE BIOCIDAS

La venta de biocidas en México sigue creciendo en pesos aunque su consumo parece estar estancado con excepción de los herbicidas que aumentan año con año. (Tabla 2.3).

TABLA 2.3

Venta de biocidas en México.
(Millones de pesos corrientes)

Agroquímicos	1980	1983	1985	1986	%
Millones de Pesos					
Insecticidas	3,706	10,250	28,175	40,400	44,4
Herbicidas	1,349	4,800	18,400	35,200	33,7
Fungicidas	736	3,100	9,487	21,000	20,0
Otros	341	850	1,438	2,000	1,9
Total	6,132	19,000	57,500	104,600	100,00

TABLA 2.4

EXPORTACION DE BIOCIDAS 1986

Enero-Dic. 1986	Cantidad Kg	Valor en Dólares
BIOCIDAS	2,181	9,190

TABLA 2.5

Paridad peso-dólar y ventas en dólares
de biocidas en México.

Año	Ventas		
	Millones pesos corrientes	Pesos/dólar promedio anual	Millones dólares
1980	6,132	22.85	268.3
1983	19,000	151.6	125.3
1985	57,500	320.16	179.6
1986	104,600	655.90	159.4
1987	210,000	1'352.00	155.3

(Estimaciones Agro - Síntesis 1987)

TABLA 2.6

IMPORTACION DE BIOCIDAS

Enero-Dic. 1986	Cantidad Kg	Valor en dólares
Biocidas	3,827	13,497

(INDICADORES DEL SECTOR INTERNO 1986).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Establecer el efecto de diferentes biocidas sobre la asociación Rhizobium - Leguminosas, en especial la asociación - - Bradyrhizobium - Frijol Soja.

2.2 Objetivos Especificos

- 2.2.1 Determinar, in vitro el efecto de varios biocidas en crecimiento de Bradyrhizobium japonicum FQ 17.
- 2.2.2 Determinar el efecto de varios biocidas en la asociación Bradyrhizobium-frijol soja, utilizando un soporte (Tezontle) y en condiciones de invernadero.
- 2.2.3 Estudiar el efecto de los biocidas en la interacción bacteria - leguminosa - suelo, en condiciones de invernadero.

GENERALIDADES

3. GENERALIDADES

3.1 DEFINICION DE BIOCIDAS

Se definen como biocidas a una variedad de sustancias -- químicas que tienen en común el ser utilizadas para eliminar o controlar cualquier forma de organismo considerado como indeseable.

3.2 CLASIFICACION

Los biocidas se clasifican en base a sus características físicas, químicas, biológicas, al organismo sobre el que actúan a la forma en que se aplican y a su valor comercial.

3.2.1 De acuerdo al organismo sobre el que actúan:

Insecticida	Control de insectos
Herbicida	Control de malezas
Fungicida	Control de hongos
Nematicida	Control de nematodos
Rodenticida	Control de roedores
Bactericida	Control de bacterias
Acaricida	Control de ácaros
Alguicida	Control de algas
Avicida	Control de aves
Picicida	Control de peces
Ovicida	Control de huevos
Moluscocida	Control de moluscos

3.2.2 De acuerdo a sus características químicas:**HERBICIDAS**

- Compuestos Clorofenólicos
- Dinitrofenoles
- Compuestos Bipiridílicos
- Herbicidas Carbamatos
- Ureas Sustituidas
- Triazinas
- Amidas

INSECTICIDAS

- Organofosforados
- Carbamatos
- Organoclorados
- Hidrocarburos clorados
- Piretro y Piretroides

FUNGICIDAS

- Compuestos cúpricos
- Tiocarbamatos
- Compuestos minerales acúpricos
- Compuestos mercuriales
- Compuestos orgánicos acúpricos

3.2.3 De acuerdo a la forma en que actúan:

HERBICIDAS

- Herbicidas Selectivos
- Herbicidas no Selectivos
- Herbicidas de Contacto
- Herbicidas de Traslocación

INSECTICIDAS

- Insecticidas Sistemicos
- Insecticidas de Contacto

FUNGICIDAS

- Fungicidas Protectores
 - Fungicidas Sistémicos
- (Khan - Shahamat 1980).

3.3 HISTORIA

HERBICIDAS

El uso de agentes químicos para controlar la vegetación, data desde la antigüedad. Los romanos salaban los campos, el cloruro de sodio aparece por primera vez en la literatura alemana en 1854, recomendándose para el control de malezas.

En 1855 se empezó a usar el ácido sulfúrico para controlar las malas hierbas que rodeaban a los cereales y a las cobollas. (Estrada 1984).

En 1943 es descubierta la actividad herbicida de los -- ácidos fenoxiacéticos como el 2 - metil - 4 - cloro CM (PA) y el ácido 2,4 dicloro-(2,4-D) fenoxiacético.

INSECTICIDAS

Se tienen datos que en el año 1000 A. C. se empezó a usar el azufre como insecticida.

En el año 79 D. C. se utilizaba el arsénico como insecticida.

En el siglo XVII se introduce el primer insecticida natural, la nicotina.

En 1850 se empiezan a utilizar la rotenona y el piretrón. En 1945 son introducidos al mercado insecticidas como el aldrin, dieldrin, heptacloro y endrin. Se obtiene el malation el primer insecticida organofosforado de amplio espectro, en el año de -- 1950. (KHAN- SAHAMAT 1980).

FUNGICIDAS

Los primeros fungicidas que se utilizaron fueron sales de cobre, mercurio y zinc. En 1913 se emplearon por primera vez los compuestos organomercuriales. Los años 30's representan el comienzo de la era moderna de los pesticidas organosintéticos un ejemplo importante es el ditiocarbamato (1939), el primer fungicida orgánico.

En el año de 1951 es introducido el fungicida llamado captan 6 (N-triclorometil tiotetrahidroftalimida). (CREMLYN, R.J. 1982)

3.4 MECANISMO DE ACCION

HERBICIDAS

Los herbicidas actúan inhibiendo o desacoplando una serie de procesos que incluyen:

- a) Fotosíntesis
- b) Respiración
- c) Síntesis de Proteínas.

Al estar íntimamente relacionados estos procesos es difícil señalar el sitio de acción primario.

La mayoría de los herbicidas interfieren con la fotosíntesis bloqueando la transferencia de electrones por inhibición de la reacción luminosa II. (ESTRADA E. 1984).

Hay aparentemente dos reacciones luminosas en la fotosíntesis y ambas reacciones reciben el nombre de reacción luminosa I y II.

La reacción luminosa I y II están acopladas en serie por el transporte fotosintético de electrones. Los electrones son energizados en la reacción luminosa II, en la cual el donador de la molécula de agua se denomina con una letra A puesto que se desconoce.

La liberación de electrones de la molécula de agua produce oxígeno y el paso de electrones por la cadena de transporte electrónico produce el acoplamiento a la fosforilación. Los electrones, después de pasar por la cadena de transporte de electrones tienen menos energía, siendo reactivados en la reacción luminosa I.

b) Respiración

La acción del herbicida en el metabolismo respiratorio puede involucrar interferencia en la glucólisis, ciclo de Krebs y el sistema de transporte electrónico o el mecanismo por medio -- del cual la oxidación se acopla a la fosforilación del ADP para formar ATP.

Se conocen tres tipos de acción:

- a) Desacoplamiento
- b) Inhibición de la fosforilación oxidativa.
- c) Inhibición del transporte electrónico.

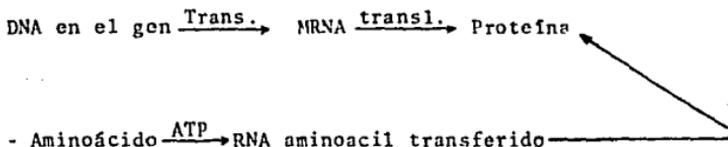
(ESTRADA E. 1984)

Aproximadamente el 50% de los herbicidas operan inhibiendo el transporte electrónico fotosintético. El resultado de la inhibición del flujo electrónico es que la fijación de CO_2 cesa y la planta muere por inanición.

(PALLET K. E. 1979).

c) Síntesis de proteínas.

- a) Inhibición de la biosíntesis de DNA.
- b) Inhibición de la Traducción del mRNA.



INSECTICIDAS

Los insecticidas tanto organofosforados como carbamatos - actúan por inhibición de la acetilcolinesterasa.

Estos insecticidas actúan por fosforilación carbamolación de la enzima acetilcolinesterasa.

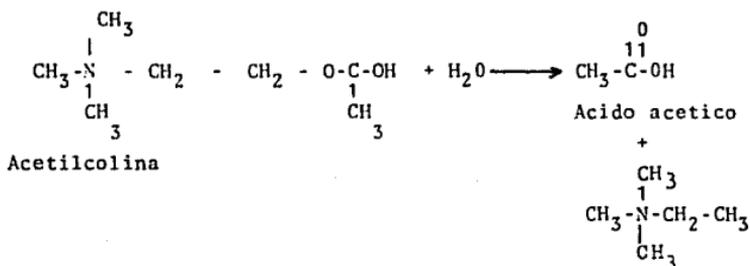
La enzima no puede catalizar la hidrólisis de acetilcolina a colina; por lo tanto hay una acumulación de ella, provocando - convulsiones y finalmente la muerte del animal.

A nivel celular los insecticidas clorados actúan por medio de la formación de ácido clorhídrico, al reaccionar con el hidrógeno presente en los tejidos celulares.

Los insecticidas organofosforados forman sales de calcio - que precipitan, lo que provoca que la estructura de sostén de la célula se vea afectado, provocando así la muerte de la célula.

BIOTRANSFORMACION DE ACETILCOLINA

HIDROLISIS



FUNGICIDAS

Los fungicidas actúan:

- a) Inhibiendo la síntesis de proteínas.
- b) Precipitando proteínas.
- c) Inhibiendo síntesis de DNA.
- d) Inhibiendo síntesis de lípidos.
- e) Inhibiendo de la formación del polímero de N-acilglucosamina.

3.5. TOXICIDAD

3.5.1 HERBICIDAS

TIPO DE COMPUESTO	UREA,URACILOS Y TRIAZINAS.	AC. ORGANICOS Y DERIVADOS	COMP. BIPYRIDI LICOS.
ACCION FARMACOLOGICA.	Respiratoria, Piel, ojos mucosa.	Hígado, riñón piel, ojos mucosa, respiratoria gastrointestinal.	Mucosa gastrica, riñón, piel, pulmón, hígado, ojos SNC.
VIAS DE ABSORCION	Ingestión y dérmica.	Ingestión y dérmica.	Ingestión Inhalación dérmica.
GRADO DE TOXICIDAD	De baja toxicidad.	De poco a altamente tóxicos.	De poco a altamente tóxicos.

TIPO DE COMPUESTO	UREA, URACILOS Y TRIAZINAS	AC. ORGANICOS Y DERIVADOS	COMP. BIPYRIDILICOS
SINTOMAS:	Causan irritación de los ojos, nariz garganta y piel. La ingestión puede provocar; gastroenteritis, Náusea Vómito Diarrea.	Debilidad Letargo Anorexia Emesis Dolor torácico, dolor abdominal, miotonfa Fibrilación muscular, vértigo y diarrea	Ingestion: Dolor (bucal subesternal y abdominal) Ulceración de la lengua garganta y esófago, vómito y diarrea 48-72 hrs: Oliguria Ictericia Tos Disnea Taquipnea Edema pulmonar.
TRATAMIENTO:	Si la cantidad ingerida es menor a 10mg/Kg. se debe administrar carbón activo o si la cantidad ingerida es menor de 10mg/Kg. desejarabe de Ipecacua-na.	En caso de ingestión, lavar el estómago con agua simple. Instilar 30g. de carbón activado en agua - efectuar catarsis con sulfato de sódio.	Si se ha ingerido, lavar el estómago con 2lt. de solución salina normal o de bicarbonato de sodio.

3.5.2 INSECTICIDAS.

TIPO DE COMPUESTO		COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS	
ACCION FARMACOLOGICA		Anticolinesterásicos (Irreversibles).	
VIAS DE ABSORCION		Ingestión, inhalación, dérmica.	
GRADO DE TOXICIDAD		De poco a altamente tóxicos	
SINTOMAS	LEVES	MODERADOS	SEVEROS
	Anorexia	Náusea	Diarrea
	Cefalea	Salivación	Pupilas puntiformes
	Debilidad	Lagrimo	Edema pulmonar.
	Ansiedad	Vómito	
	Miosis	Tremores musculares	Cianosis
			Convulsiones
			Coma y paro cardiaco.
TRATAMIENTO	Es imperativo iniciar el tratamiento de inmediato.		
	1. Si los síntomas son severos, inyéctese sulfato de atropina, intravenosamente.		
	2. En los casos severos, administrar Cloruro de Pralidoxima, intravenosa o intramuscular.		
	3. Evitar: Morfina, Teofilina, Aminofilina, Furosemida, Barbituratos y Fenotiazinas.		

INSECTICIDAS

TIPO DE COMPUESTO	HIDROCARBUROS CLORADOS
ACCION FARMACOLOGICA	Neurotóxicos, SNC, riñón, hígado
VIAS DE ABSORCION	Ingestión, inhalación dérmica.
GRADO DE TOXICIDAD	De poco a altamente tóxicos
SINTOMAS	<p>Los síntomas que se presentan entre los veinte minutos y las 4 hrs. después del contacto inicial son:</p> <p>Náusea Cefalea Vómito Irritabilidad Desorientación Debilidad Bleparoespasmos Aprensión Parestesias</p>
TRATAMIENTO	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cuando se ha ingerido; lavado de estómago con 2-4 lts. de agua simple. Instilar 30g de carbón activado en agua. Administrar sulfato de sodio como catártico. 2. Anticonvulsivos en dosis apropiadas. 3. Evitense las siguientes sustancias: Aceites; laxantes oleosos; Epinefrina (adrenalina).

INSECTICIDAS

TIPO DE COMPUESTO	CARBAMATOS	
ACCION FARMACOLOGICA	Anticolinesterásicos (reversible)	
VIAS DE ABSORCION	Ingestión, inhalación dérmica.	
GRADO DE TOXICIDAD	De poco a altamente tóxicos	
SINTOMAS	Cefalea	Vértigo
	Laxitud	Falta de coordinación.
	Náusea	Bradycardia
	Incontinencia	Disnea
TRATAMIENTO	<ol style="list-style-type: none"> 1. Si los síntomas son severos, inyéctese sulfato de atropina intravenosamente. 2. En los pacientes cianóticos, facilítese primero la ventilación pulmonar y luego adminístrese atropina. 3.- Manténgase limpias las vías respiratorias; en casos severos úsese oxígeno - e insértese tubo endotraqueal. 	

(DE LA JARA 1985)

TIPO DE COMPUESTO	TIOCARBAMATOS
ACCION DE ABSORCION	Ingestión, inhalación dérmica.
VIAS DE ABSORCION	Sistemas enzimáticos del hígado y SNC.
TOXICIDAD	De poco a altamente tóxicos.
SINTOMAS	Sin ingerir alcohol Picor y enrojecimiento Dermatitis Ronquera Después de la ingestión de alcohol Bochorno Sudoración Disnea.
TRATAMIENTO	Sin Complicación Alcohólica: 1.- No se permite ingestión de alcohol durante 3 semanas. 2.- Lavar el estómago con agua simple Instilar carbón activado. Complicaciones por Ingestión de Alcohol: 1.- Aplicar oxígeno 100% para atenuar los síntomas. 2.- Administrar vitamina C intravenosamente.

(DE LA JARA 1985)

CUADRO DE ESCALA DE TOXICIDADES

CATEGORIA	DL ₅₀ (Ratas) mg/Kg de peso			
	ORAL		DERMAL	
	Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
I EXTREMA DAMENTE TOXICO	≤ 5	≤ 20	≤ 10	≤ 40
II ALTAMENTE TOXICO	> 5 ≤ 50	> 20 > 200	> 10 > 100	> 40 > 400
III MODERADA MENTE TOXICO	> 5 ≤ 500	> 200 > 2000	> 100 > 1000	> 400 < 4000
IV LIGERAMENTE TOXICO	> 500	> 2000	> 1000	> 4000

(DE LA JARA 1985)

3.6 PERSISTENCIA DE BIOCIDAS

Un biocida persistente tiene una posición especial en la contaminación ambiental debido a que:

- a) puede ser asimilado por las plantas y acumulado en porciones comestibles.
- b) adherirse a porciones comestibles de cultivos radiculares.
- c) ser transportado a corrientes de agua por partículas del suelo.

Los microorganismos son esenciales para librar al ambiente de los biocidas, de ahí se establecen dos aspectos prácticos: La tasa de degradación de biocidas se eleva incrementando la temperatura o elevando la humedad del suelo seco; las tasas de descomposición son mayores en suelos ricos en materia orgánica que en los suelos pobres quizá debido a comunidades de microorganismos más vigorosas.

Se encuentran también moléculas llamadas recalcitrantes - (inquebrantables) y no son metabolizadas o mineralizadas en tasas significativas, esto se debe a que los microorganismos presentes en el suelo tienen poca o ninguna acción sobre los agentes químicos de vida prolongada.

El período de persistencia frecuentemente se considera como el tiempo requerido para que la mitad del agente químico se pierda, aunque suele expresarse como el tiempo necesario para que desaparezca totalmente cualquier nivel detectable de la sustancia.

La vida de una sustancia en la naturaleza se ve afectada por el suelo, condiciones locales de temperatura, precipitación pluvial y prácticas agrícolas. (ALEXANDER M 1977).

PERSISTENCIA DE PESTICIDAS

Substancia	Aún detectable	Vida media aproximada
Clordano	21 años	2-4 años
DDT	24 años	3-10 años
Dieldrin	21 años	1-7 años
Heptacloro	16 años	7-12 años
Toxafeno	16 años	10 años
Dalapon	10 semanas	---
DDVP	/	167 días
Metil demeton S	/	26 días
Timet	/	2 días

(ALEXANDER M 1977)

La persistencia de los biocidas se clasifica en:

Biocidas permanentes (con toxinas virtualmente indisociables como; compuestos de mercurio, de arsénico y de plomo, muy poco solubles en agua.

Los biocidas persistentes pierden muy lentamente su actividad, pero pueden conservar la mitad de su capacidad durante un lapso comprendido entre 2 y 5 años.

--- Biocidas de persistencia moderada

Son aquellos que pierden su actividad en 18 meses como máximo, en condiciones ambientales ordinarias. A este tipo pertenece la mayoría de los herbicidas, así como algunos insecticidas.

--- Biocidas no persistentes.

Son aquellos que tienen una vida breve, pues pierden su toxicidad dentro de una sola temporada de cultivo, en presencia de características ambientales normales. Entre ellos están los compuestos organofosforados; malatión, paratión, metil paratión. En los compuestos organofosforados se han observado efectos sinérgicos -- fuertes, que revelan que su toxicidad aumenta considerablemente cuando se administran juntos.

Otra complicación respecto a los biocidas persistentes, es la migración química de estos compuestos después de cerca de tres décadas de uso, se encuentran hoy en día esparcidos por todo el mundo, aún en lugares alejados de toda aplicación real.

(VISCAINO 1979).

3.7 ENFERMEDADES QUE AFECTAN AL FRIJOL SOJA

Las enfermedades del frijol soja se clasifican en infecciosas y no infecciosas.

ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Se conocen cerca de 100 agentes patógenos que afectan al frijol soja, de los cuales aproximadamente 35 poseen cierta importancia económica.

Las enfermedades infecciosas se deben a agentes -- que se pueden transmitir de una planta infectada a una sana; los hongos, bacterias, virus y nemátodos provocan este tipo de enfermedades.

HONGOS:

Podredumbre por Phytophthora

Podredumbre carnosa del tallo

Tizón de la vaina y del tallo

Antracnosis

Roya

Podredumbre del tallo por Neucosmopora

Podredumbre radial por Mycoleptodiscus

Podredumbre radical por Thielaviopsis

Enfermedades BACTERIANAS:

Tizón bacteriano

Pústula bacteriana

Marchitamiento bacteriano

Quemazón.

Encrispamiento foliar bacteriano

Mancha chocolate

Enfermedades VIRALES:

Mosaico del frijol soja

Tizón de brote

Tizón brasileiro de brote

Mosaico amarillo.

Enfermedades por NEMATODOS:

Nematodo quístico del frijol soja

Nematodo del nudo de la raíz

Nematodo reniforme

Nematodo de la lesión de la raíz

Nematodos del aguijón

Nematodos del tallo

Enfermedades NO INFECCIOSAS:

Se deben a diversas condiciones ambientales desfavorables, a factores nutricionales y otros.

Se clasifican en:

Daños por endurecimiento y compactación del suelo.

Daños por gases contaminantes del aire, como ozono, fluoruros, anhídrido sulfuroso, amoníaco, etc.

Daños por granizo y heladas.

Daños por deficiencia y toxicidad de minerales como:

Fósforo

Calcio

Potasio
Magnesio
Azufre
Fierro
Manganeso

Daños por pesticidas como herbicidas

Daños por el agua

Daños por la acción de rayos (se presentan manchas hasta de 15 m de diámetro en los cultivos, abarcando un margen amplio de plantas lesionadas, muriendo estas plantas).

3.8 PLAGAS Y PATOGENOS QUE MAS AFECTAN LAS COSECHAS DE FRIJOL SOJA EN NUESTRO PAIS.

Plaga y

Patógeno

NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO
Chicharritas	<u>Empoasca fabae</u>
Conchuela Verde ó Cinche Verde	<u>Nezara viridura</u>
Conchuela Café	<u>Euschistus servus</u>
Chinche lygus	<u>Lygus sp</u>
Trips Negro	<u>Hercotothrips phaseoli</u>
Antracnosis	<u>Colletotrichum dematium</u>
Mancha ojo de rana	<u>Cercospora sojina</u>
Mildiu ó Cenicilla velluda	<u>Cercospora manchorica</u>
Gusano Terciopelo	<u>Anticarsia gemmatalis</u>
Mosca blanca	<u>Trialeurodes vaporarium</u>
Conchuela del frijol	<u>Epilachna varivestis</u>

Diabroticas	<u>Diabrotica halteata</u>
Gallina ciega	<u>Phylophaga sp</u>
Grillo de campo	<u>Gryllus assimilis</u>
Gusano de alambre	<u>Elateridae</u>
Gusanos Trozadores	<u>Agrotis spp</u>
Gusano elotero	<u>Heliothis zea</u>
Gusano falso medidor	<u>Pseudoplusia includens</u>
Gusano soldado	<u>Spodoptera exigua</u>

(S.A.R.H. 1986)

3.9 EFECTO DE DIFERENTES BIOCIDAS SOBRE LA ASOCIACION

RHIZOBIUM - LEGUMINOSAS.

Fischer y Tasistro 1979 realizaron un experimento de inver~~n~~nadero en donde aplicaron diferentes herbicidas a plantas de - frijol (*Phaseolus vulgaris*) para observar el efecto sobre la -- simbiosis con Rhizobium phaseoli. Los resultados fueron los siguientes; bentazona y trifluralina resultaron relativamente ino~~n~~cuos; EPTC y acifluorfen produjeron daños moderados; dinoseb -- produjo inhibiciones en la asociación que van de severas a mode~~n~~radas; alaclor, linuron y prometina produjeron inhibiciones se~~n~~veras; finalmente dalapon produjo inhibiciones muy severas.

El efecto inhibitorio de los herbicidas apareció también en parcelas con Nitrógeno (no inoculadas, por lo tanto sin nódulos) de lo que se concluye que un efecto inhibitorio de la simbiósis (producción de masa nodular, en este caso es inseparable de - - efectos inhibitorios del normal desarrollo de la parte aérea y de la raíz de la planta.

--- Cuautle, Núñez y Valdés 1980 reportan que la fumigación bajo condiciones de temporal da como resultado un rendimiento máximo en la producción del cultivo y una disminución del número total de nódulos en dos variedades de frijol: Negro Puebla y Negro 150.

La fumigación del suelo resultó efectiva en el aumento del rendimiento, no precisamente porque disminuyó la población nativa de *Rhizobium*, sino porque aumentó la fertilidad del suelo y controló malezas.

Se utilizó bromuro de metilo como fumigador.

Los suelos después de fumigados presentaron el mismo pH, un ligero aumento en la conductividad eléctrica, disminución en potasio asimilable y se presentó aumento en fósforo aprovechable, aumento en la concentración de amonio y disminución de NO_3^- , lo cual refleja que la fumigación ocasionó una reducción en la actividad de los microorganismos nitrificantes.

--- (Chambers y Montes 1982) reportan que Captan y Tiram en concentraciones altas afectan la nodulación de leguminosas inocuadas, pero PCNB y Benomilo son relativamente inocuos.

--- (Fisher y Hayes 1981) reportan que Carboxin, Oxicarboxin y Tridemorf, aplicados en altas concentraciones reducen la actividad de la nitrogenasa (reducción de acetileno) en la simbiosis trébol (*Trifolium repens*) -*Rhizobium* pero en las concentraciones recomendadas no tienen efectos nocivos.

--- (Faizah, 1980) y (Mallibak y Tesfai 1983) reportan lo siguiente: Tiram, PCNB y Pcnb + Terrazol aplicados a semillas -- inoculadas de chfcharo de Vace (*Vigna unguiculata*) fueron perjudiciales a la nodulación. En similares condiciones Carboxin, Maneb y Dicloran + Captafol (50 + 50) reducen severamente la nodulación.

3.10 EFECTO DE DIFERENTES BIOCIDAS SOBRE LA ASOCIACION

RHIZOBIUM - FRIJOL SOJA.

--- (Barrentine y Frans 1975) indican que al utilizar herbicidas el crecimiento de frijol soja se inhibe. Algunos herbicidas como 2,4-Dyparaquat inhibe en forma notable el crecimiento de la planta de frijol soja, en cambio cloranbeno y atracina no producen inhibición notable del crecimiento de la planta de frijol soja.

--- El efecto de fungicidas fue estudiado por Chamber y -- Montes 1982 quienes reportan que el Captan no debe usarse nunca como fungicida para la semilla de frijol soja por ser altamente tóxico, además al utilizarlo en la planta tiene un efecto antirhizobial: origina una enorme disminución en el número de nódulos y masa nodular, lo que prueba la alta toxicidad de este fungicida para Rhizobium.

--- (Diatloff 1985) reporta que la nodulación y fijación de nitrógeno en frijol soja son afectados por fungicidas sistémicos y no sistémicos en cuatro formas:

- a) Supervivencia de rizobia
- b) Proceso de infección
- c) Formación de nódulos
- d) Fijación de nitrógeno en el nódulo.

---(Mallik y Tesfai 1985) realizaron estudios sobre el - - efecto de diferentes biocidas en la asociación Rhizobium-Frijol Soja; las dosis normales de biocidas que se utilizaron fueron - las recomendadas por hectárea, pero además se utilizaron dosis cinco y diez veces mayores, realizándose las pruebas en el invernadero. Los resultados fueron los siguientes:

PCNB, Carboxin y Carboxin + Captan en la dosis recomendada no afectan el crecimiento, la nodulación, la fijación de nitrógeno y el contenido de nitrógeno total de raíces.

Carboxin y Carboxin + Captan en dosis 10 veces mayor a la indicada afectan la nodulación y la fijación de nitrógeno, pero no otros parámetros.

Carbarilo y Malation en las dosis recomendadas no presentan efectos adversos, pero incrementando 10 veces las dosis recomendadas se reduce severamente la fijación de nitrógeno.

Acefato, Diazinon y Toxafeno en incrementos de 5 y 10 veces las dosis indicadas reducen la fijación de nitrógeno y el contenido total de nitrógeno, pero no el crecimiento y la nodulación.

Los cinco herbicidas utilizados fueron: Alaclor, 2,4-DB, -- Glifosato, Metribuzin y Trifluralin, y al ser utilizados en la dosis recomendada y cinco veces esta dosis, afectaron en mayor o

MATERIAL
y
MÉTODOS

menor grado a los parámetros estudiados: crecimiento de la planta de frijol soja, contenido total de nitrógeno y fijación de nitrógeno.

Glifosato fue el menos tóxico a todos los parámetros- 2,4-DB en la dosis recomendada fue menos dañino a la nodula ción y a la fijación de nitrógeno en comparación con Triflu ralin, Alaclor y Metribuzin.

4. MATERIAL Y METODOS

PRUEBAS IN VITRO

4.1 MATERIAL

- Cajas de Petri previamente esterilizadas.
- Diluciones de biocidas a diferentes concentraciones.

Ver Tabla 4.1 y Tabla 4.2

- Medio de cultivo ELMARC y CELM
- Cepa de Bradyrhizobium japonicum FQ 17 clasificadas con las siguientes Claves Sinónimas.

3 I 1b 110 Dpto. Agricultura U.S.A.

TAL 102

11 TA # 18

FQ 8

Origen: Florida U.S.A.

Esta cepa se utilizó por ser muy efectiva con diferentes variedades de frijol soja.

TABLA 4.1

BIOCIDAS EMPLEADOS

INSECTICIDAS	HERBICIDAS	FUNGICIDAS
Metamidofos	Glifosato	Captan
Paration	Transquat	Clorotalonil
Malation	Afalon	Benomilo
Folimat		
Diazinon		

TABLA 4.2

Concentraciones de Biocidas utilizadas
en las pruebas in vitro

BIOCIDA	Conc. I en ppm	Conc. II en ppm	Conc III en ppm
INSECTICIDAS			
Metamidofos	0.025	0.05	0.1
Paration	0.05	0.1	0.2
Malation	4	8	16
Diazinon	0.05	0.1	0.2
Folimat	0.025	0.05	0.1
FUNGICIDAS			
Captan	1	2	4
Clorotalonil	0.1	0.2	0.4
Benomilo	0.1	0.2	0.4
GERBICIDAS			
Glifosato	0.5	1	2
Transquat	0.25	0.5	1
Afalon	0.25	0.5	1

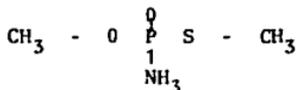
Tabla basada en datos reportados por la Dirección de Sanidad Vegetal, sobre límites de Tolerancia en frijol soja. (1986).

4.1.1 FORMULAS Y NOMBRES QUIMICOS DE LOS BIOCIDAS UTILIZADOS
PARA LA REALIZACION DE ESTA TESIS.

---INSECTICIDAS

METAMIDOFOS

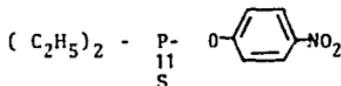
o,s- dimetil fosforamidotiato



PARATION METILICO

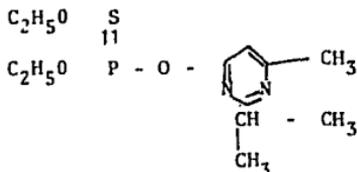
Otros nombres: Alkron; Bladen; DNTP; Etil paration; Fosferno
Tiofos: Todiatox.

Nombre químico: o, o dietil o- (4- nitrofenil) fosforotiato



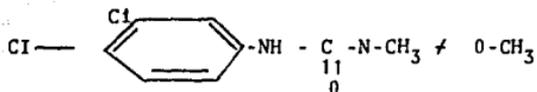
DIAZINON

Otros nombres: Basudin; G-24480; Neocidol; Nucidol; Espectraci
da. Nombre químico: o,o-dietil o-(6-metil-2-(1-metiletil)4-pi-
rimidil). fosforotiato.



AFALON

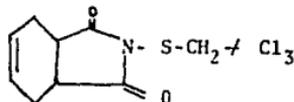
Otros nombres: Linuron



---FUNGICIDAS

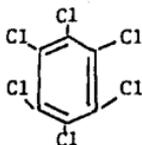
CAPTAN

Nombre Químico: 3a 4,7,7,7a-tetrahidro-2((triclorometiltio))
-1H-isoindol-1,3(2H)-diona (9 Cl) N-((triclorometil) trio)- 4-ciclohexeno - 1,2, dicarboximida.



CLOROTALONIL

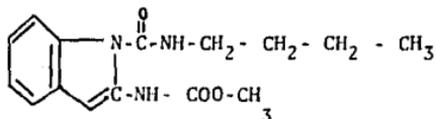
Nombre Químico: 2,4,5,6-tetracloro-1,3-bencendicarbonitrilo



BENOMILO

Otros nombres: Benlato

Nombre Químico: metil (1-(butilamino) carbonil-1-H bencimidazol
O 2-1) carbamato.

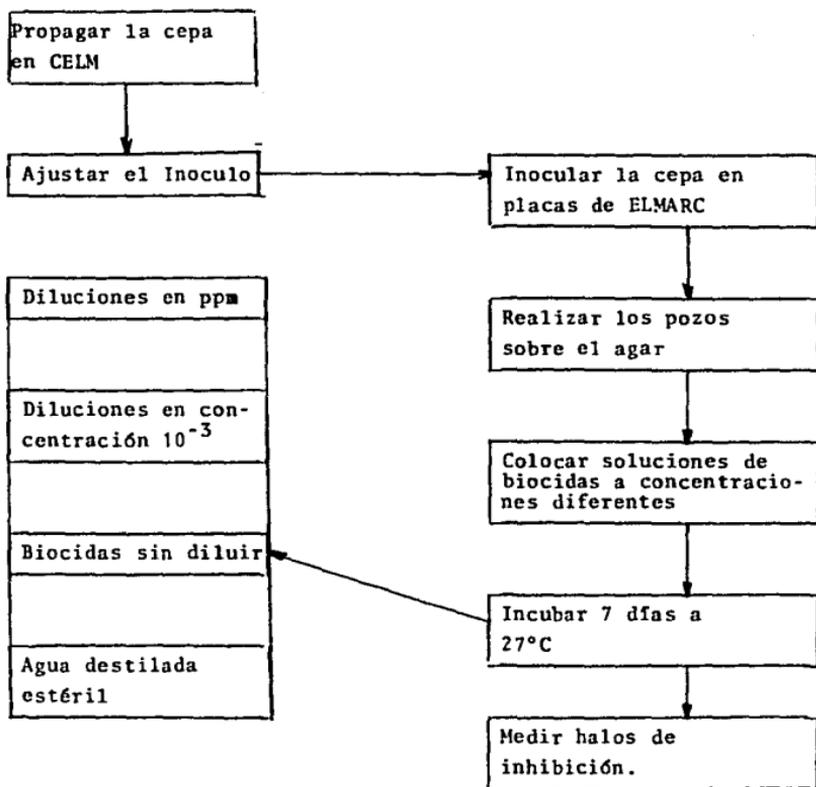


4.2 METODOLOGIA

- El paso inicial fue la propagación de la cepa de Bradyrhizobium japonicum FQ 17 en medio CELM; se mantuvo en -- agitación durante 7 días en un agitador rotatorio (G-24 Environmental incubator Shaker New Brunswick Scientific Co.). Después se ajustó el inóculo a una concentración - de 10^9 bact/ml mediante el empleo de la curva de MacFarland.
 - Ya ajustado el inóculo; se procedió a realizar la inoculación de la cepa de Bradyrhizobium japonicum FO 17 en - placas de ELMARC. (Temperatura del medio; aproximadamente $35^\circ - 45^\circ$).
 - A continuación se colocaron aproximadamente 20 ml de medio inoculado en cada caja Petri, ya solidificado se procedió a realizar los pozos, con un sacabocados estéril.
 - En los pozos se colocaron 0.8 ml de los biocidas a las - concentraciones indicadas en la Tabla 4.2; y además a -- una concentración de 10^{-3} ; así como también se emplearon los biocidas sin diluir.
- En las pruebas testigo se empleó agua destilada estéril.
- Por último las cajas se incubaron durante 7 días a 27°C ; después de transcurrido este tiempo, se realizaron las - observaciones y las mediciones de los halos de inhibición.

ESQUEMA 4.2.1

El esquema de trabajo para las Pruebas in Vitro del efecto de diferentes Biocidas en el crecimiento de Bradyrhizobium japonicum FQ 17 fue el siguiente:



4.3 PRUEBAS IN VIVO

4.3.1 MATERIALES

- Suelo Agrícola: el suelo agrícola utilizado para el experimento fue extraído de la capa arable del poblado de Pastor Ortiz, en el estado de Michoacán. Este poblado se encuentra localizado entre los límites del estado de Guanajuato y Michoacán. Este suelo presentó las características señaladas en la Tabla 5.1.
- Cepa: *Bradyrhizobium japonicum* FQ 17; características - señaladas en el punto número 4.1. La cepa inoculada en medio CELM tenía una concentración de 10^9 bact/ml.
- Semillas
Se emplearon semillas de frijol soja (Glycine max). Variedad Santa Rosa.
- Tezontle ajustado a pH 7 y estéril.
- 100 Macetas de material plástico con una capacidad de -- 3000 g.
- Biocidas empleados a las dosis señaladas en la Tabla 4.3.1. Estas dosis se calcularon en base a lo reportado por la Dirección de Sanidad Vegetal para una hectárea, realizándose el cálculo para 3000 g de suelo agrícola.
- Fertilizante fosfatado.

TABLA 4.3.1.

DOSIS DE BIOCIDAS UTILIZADAS
EN LOS TRATAMIENTOS DE LAS PRUEBAS IN VIVO.

Biocida	Dosis indicada Ha.	Dosis aplicada por maceta
INSECTICIDAS	1 l/Ha.	0.0015 -0.0025 ml
METAMIDOFOS		
MALATION	1 l/Ha.	0.0015 ml
PARATION	1.2 - 1.6 l/Ha.	0.0018 -0.0024
DIAZINON	1 l/Ha.	0.0015 ml
FOLIMAT	1 l/Ha.	0.0015 ml
HERBICIDAS		
GLIFOSATO	1.0 - 1.5 Kg/Ha.	0.0015-0.0025 mg
TRANSQUAT	2.0 -2.5 Kg/Ha.	0.003 -0.00375 mg
AFALON	1 Kg/Ha.	0.0015 mg
FUNGICIDAS		
CAPTAN	1.0 -2.0 Kg/Ha.	0.0015 -0.0030 mg
CLOROTALONIL	1.5 -2.5 Kg/Ha.	0.0025 -0.00375 mg
BENOMILO	0.5 Kg/Ha.	0.00075 mg

Tabla basada en los datos reportados por S.A.R.H. 1986)

4.3.2. METODO

Se siguió el Esquema de Trabajo 4.3.2.

- Preparación de Suelo Agrícola.

El suelo se tamizó con una malla de 2 mm de abertura.

Los análisis que se le realizaron fueron: físicos, químicos y microbiológicos, los resultados de estos análisis se señalan en la Tabla 5.1.

La metodología seguida se encuentra especificada en el --
APENDICE.

- Preparación del Tezontle

El tezontle se lavó; se ajustó a pH 7 y se esterilizó a vapor durante 1 hora.

- Unidades experimentales.

Las unidades usadas fueron macetas de material plástico - de 8" de Ø, en el caso de las que se llenaron con tezontle, se lavaron y desinfectaron con alcohol.

- Semillas.

Las semillas se seleccionaron manualmente tomando en cuenta tamaño y apariencia. Se desinfectaron con Cloralex al 5% (v/v) y se hicieron germinar sobre algodón húmedo en recipientes de vidrio a 28°C, todo en condiciones estériles.

- Tratamientos

- Fertilización; se aplicó al suelo una dosis de 00-60-00 como superfosfato triple, 10 días antes de la siembra.
- Inoculación; a las unidades que les correspondía este tratamiento se les aplicó el cultivo líquido bacteriano, en una proporción de 1 ml/semilla conteniendo 10^9 bact/ml de *Bradyrhizobium japonicum*. Esto se realizó al momento de la siembra.

Aplicación de biocidas.

- . Biocidas sistémicos de preemergencia: fueron aplicados al suelo 7 días antes de la siembra, en tezontle y suelo agrícola.
- . Biocidas de contacto: se aplicaron por aspersión a las 2 semanas de la siembra.

Siembra.

Las semillas; con 3 días de germinación fueron depositadas a 2 cm de profundidad, en número de 6 semillas por maceta. En el caso de las unidades con tezontle, el manejo fue bajo condiciones asépticas. Después de dos semanas se efectuó el aclareo dejando tres plantas por maceta, procurando la mayor uniformidad entre ellas.

Distribución de macetas.

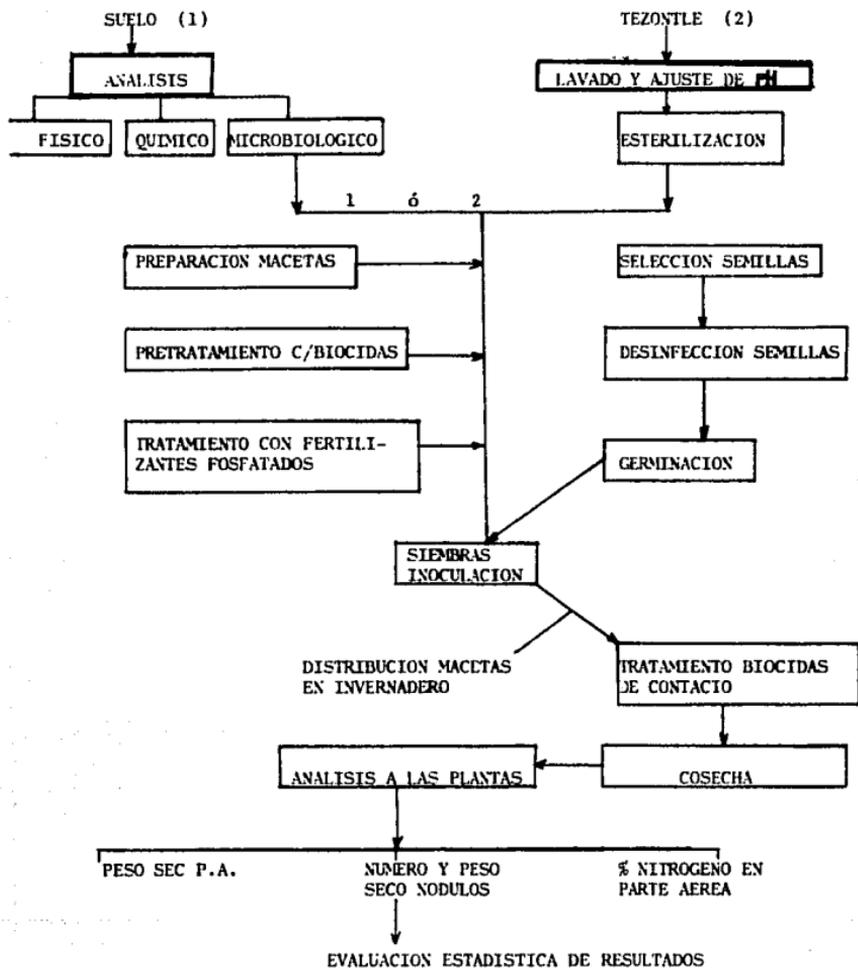
La distribución de las unidades experimentales en el invernadero fue completamente al azar.

Soluciones de riego.

Las unidades con suelo agrícola fueron regadas con agua corriente, y a las unidades con tezontle se les regó con solución nutritiva de Jensen (Ver Apéndice).

ESQUEMA 4.3.2

DIAGRAMA DE TRABAJO SEGUIDO PARA LAS PRUEBAS IN VIVO



5. RESULTADOS

TABLA 5.1

CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS

DEL SUELO

Muestra	Humedad	pH	Color	Textura	C.I.C.T. meq/100 g
Suelo	9.6%	7.3	Seco 5 y 2.5/1 Negro Húmedo 5 y 2.5/2	Nigajón Arcilloso	70.58
	Nitrógeno Total		Materia Orgánica (Por ciento)		Fósforo (ppm)
	0.0839 %		0.6909 %		5.72

TABLA 5.2

CARACTERISTICAS MICROBIOLÓGICAS DEL SUELO

No. Organismos/Gramo de suelo $\times 10^6$

Muestra	Bacterias	Hongos
Suelo	37×10^6	33×10^6

PRUEBAS IN VITRO

TABLA 5.3

Efecto de Insecticidas en el desarrollo de Bradyrhizobium japonicum FQ 17

Insecticida*	Diámetro de halo de inhibición mm
MALATION	0.53
METAMIDOFOS	0.56
PARATION	0.56
DIAZINON	0.60
FOLIMAT	0.18

* Concentración del biocida: 10^{-3}

TABLA 5.4

Efecto de Herbicidas y Fungicidas en el desarrollo de Bradyrhizobium japonicum FQ 17

HERBICIDAS	Diámetro de halo de inhibición mm
GLIFOSATO	0.43
TRANSQUAT	0.28
AFALON	0.15
<u>FUNGICIDAS</u>	
CAPTAN	0.50
CLOROTALONIL	0.43
BENOMILO	0.47

(Concentración del biocida: 10^{-3})*

No se reportan las otras concentraciones, pues no hubo halo de inhibición

5.5

Determinación de Peso Seco (Parte aérea y Nódulos) y % de Nitrógeno en plantas de frijol soja. Inoculado con la cepa de Bradyrhizobium japonicum FQ 17.

TEZONTLE

		Peso seco + parte aérea g	Peso seco + Nódulos mg	% Nitrógeno +
	Testigo inoculado	1.31 b	704.1 mg	2.5 %
Fungicidas	Captan	1.48 a	193.1 d	2.8
	Clorotalonil	1.36 b	91.5 b	2.8
	Benomilo	1.18 c	508.6	2.9
Herbicidas	Glifosato	0.96 c	139.9 c	1.0
	Transquat	0.93 c	46.4 a	1.0
	Afalon	0.94 c	624.7	1.0
Insectici- das	Metamidofos	1.11 d	323.9 f	1.8
	Malation	1.47 a	230.4 c	1.8
	Paration	1.52 a	434.7 g	2.0
	Diazinón	1.10 d	458.4	2.2
	Folimat	0.97 c	233.4 c	1.7

+ Promedio de tres repeticiones.

TABLA 5.5.1.

Determinación de Peso Seco (Parte aérea y Nódulos) y % de Nitrógeno en plantas de frijol soja. Inoculado con la cepa de Bradyrhizobium japonicum FO 17.

SUELO AGRICOLA

		Peso Seco ⁺ parte aérea g	Peso seco ⁺ Nódulos mg	% Nitró- geno ⁺
	Testigo sin inocular	2.34 c	930.0	3.6 c
	Testigo inoculado	2.99 h	980.0	3.5 bc
	Testigo c/biocida	1.87 c	--	--
Fungicida	Captan	2.56 f	579.3	4.0 d
	Clorotalonil	2.64 fg	130.0	4.4 c
	Benomilo	2.82 g	370.0	4.3 c
Herbicidas	Glifosato	1.77 c	430.0	2.7 a
	Transquat	2.70 fg	450.0	3.5 b
	Afalon	1.34 b	200.0	2.5 a
Insecticida	Metamidofos	1.96 d	130.0	3.4 b
	Malatión	2.36 c	40.0	3.7 c
	Paratión	1.38 b	590.0	3.4 b
	Diazinón	1.90 cd	790.0	3.7 c
	Folimat	1.09 a	230.0	3.5 b

5.6 ANALISIS DE VARIANZA DE PESO SECO PARTE AEREA

TEZONTLE

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadr. (sc)	Cuadrado medio (cm)	F requerida		
				F	5%	1%
Total	38	2.91				
Tratamientos	12	2.24	0.1882	4.36	3.40	5.61
Error	26	0.67	0.0430			

TABLA 5.6.1.

SUELO AGRICOLA

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadr. (sc)	Cuadrado medio (cm)	F requerida		
				F	5%	1%
Total	38	13.93				
Tratamientos	12	11.49	0.9513	8.86	3.40	5.61
Error	26	2.44	0.1093			

ANALISIS DE VARIANZA DE PESO SECO (NODULOS)

TABLA 5.6.2

TEZONTLE

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadr. (sc)	Cuadrado medio (cm)	F requerida	5%	1%
Total	35	6.08981				
Tratamientos	11	5.37011	0.488192	16.27	3.07	4.85
Error	24	0.719695	0.029987			

TABLA 5.6.3

SUELO AGRICOLA

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadr. (sc)	Cuadrado medio (cm)	F requerida	5%	1%
Total	38	4.1511				
Tratamientos	12	2.3763	0.1980	2.90	2.15	2.96
Error	26	1.7748	0.06826			

ANALISIS DE VARIANZA DE CONTENIDO DE NITROGENO

TABLA 5.6.4

TEZONTLE

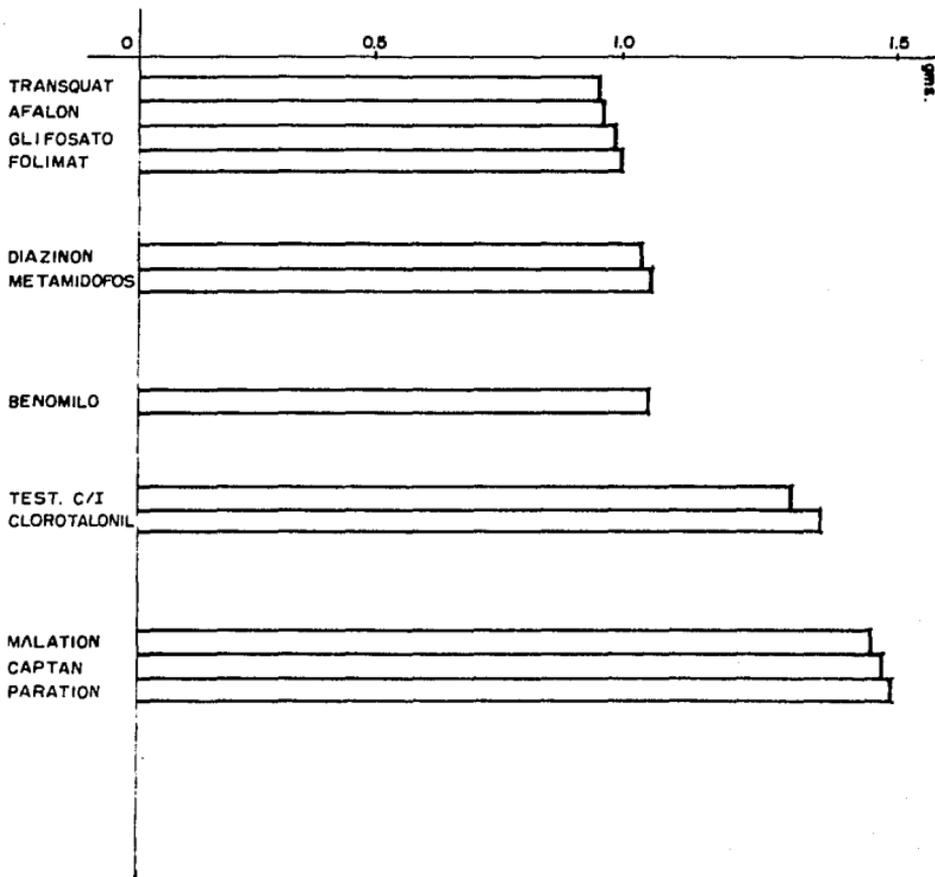
Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadr. (sc)	Cuadrado medio (cm)	F requerida F 5% 1%
Total	35	7.855		
Tratamientos	11	0.064	1.45	5.7 2.16 2.98
Error	24	7.791	0.254	

TABLA 5.6.5

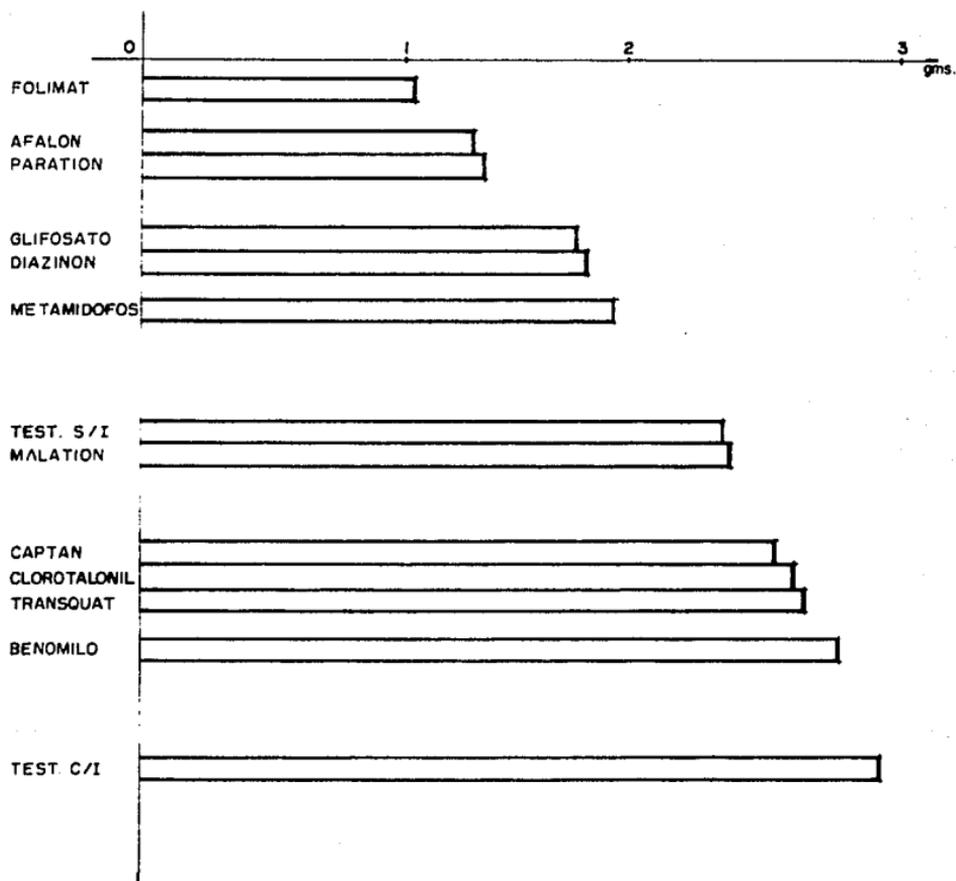
SUELO AGRICOLA

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadr. (sc)	Cuadrado medio (cm)	F requerida F 5% 1%
Total	58	18.573		
Tratamientos	12	8.34	0.695	2.44 2.03 2.72
Error	26	10.23	0.284	

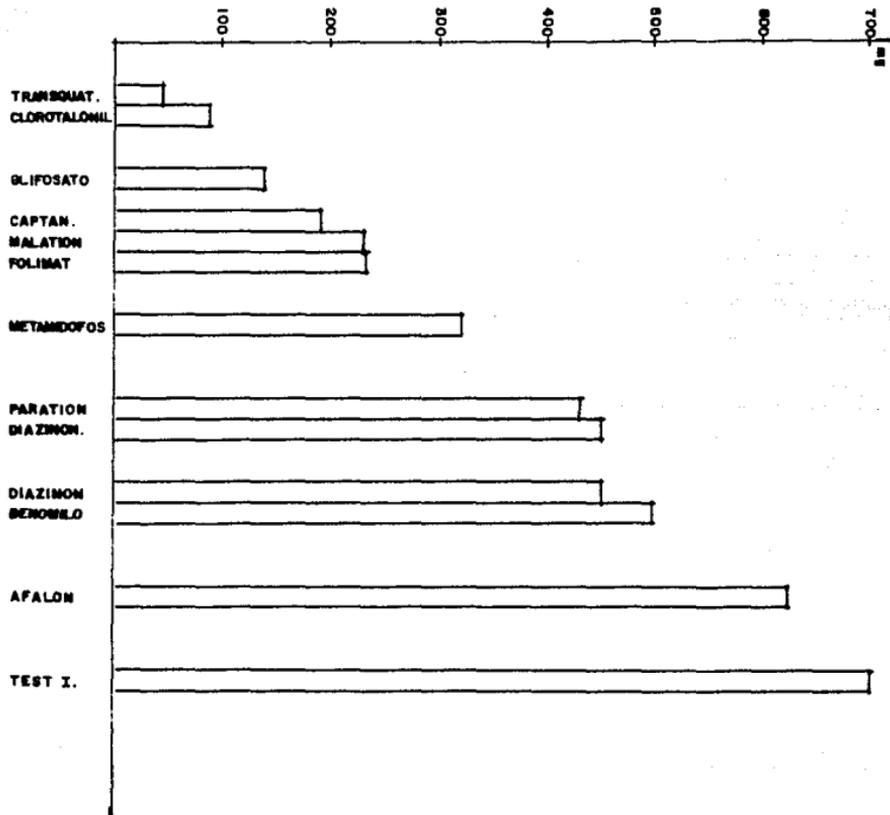
PESO SECO PARTE AEREA
TEZONTLE



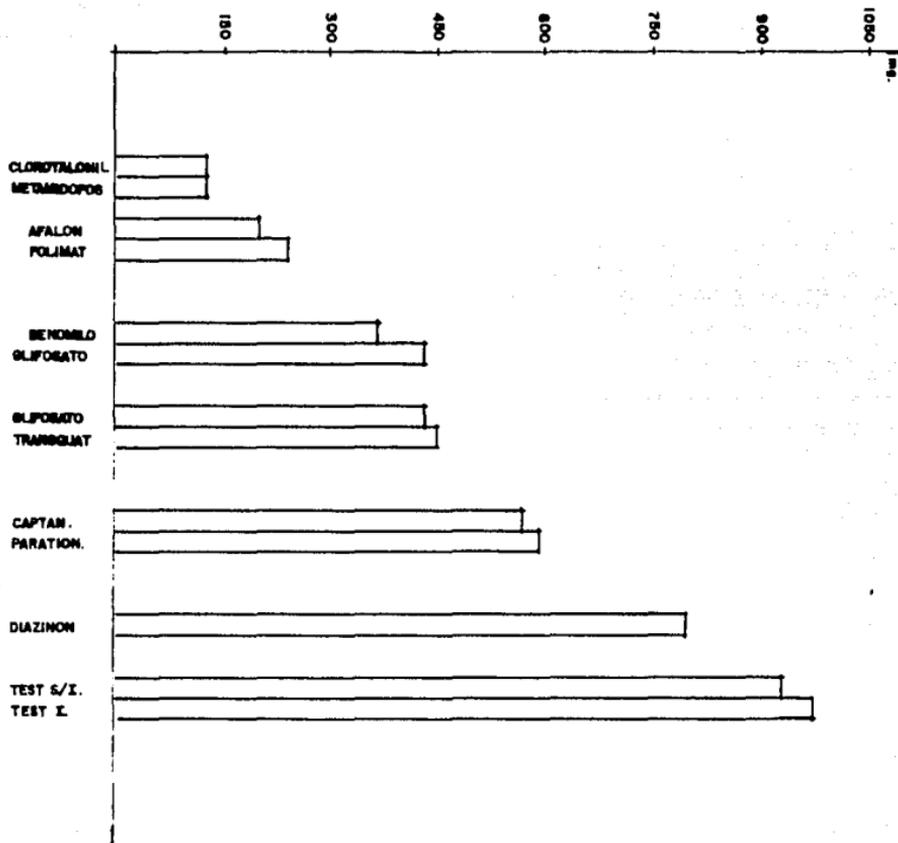
PESO SECO PARTE AEREA
EN SUELO AGRICOLA



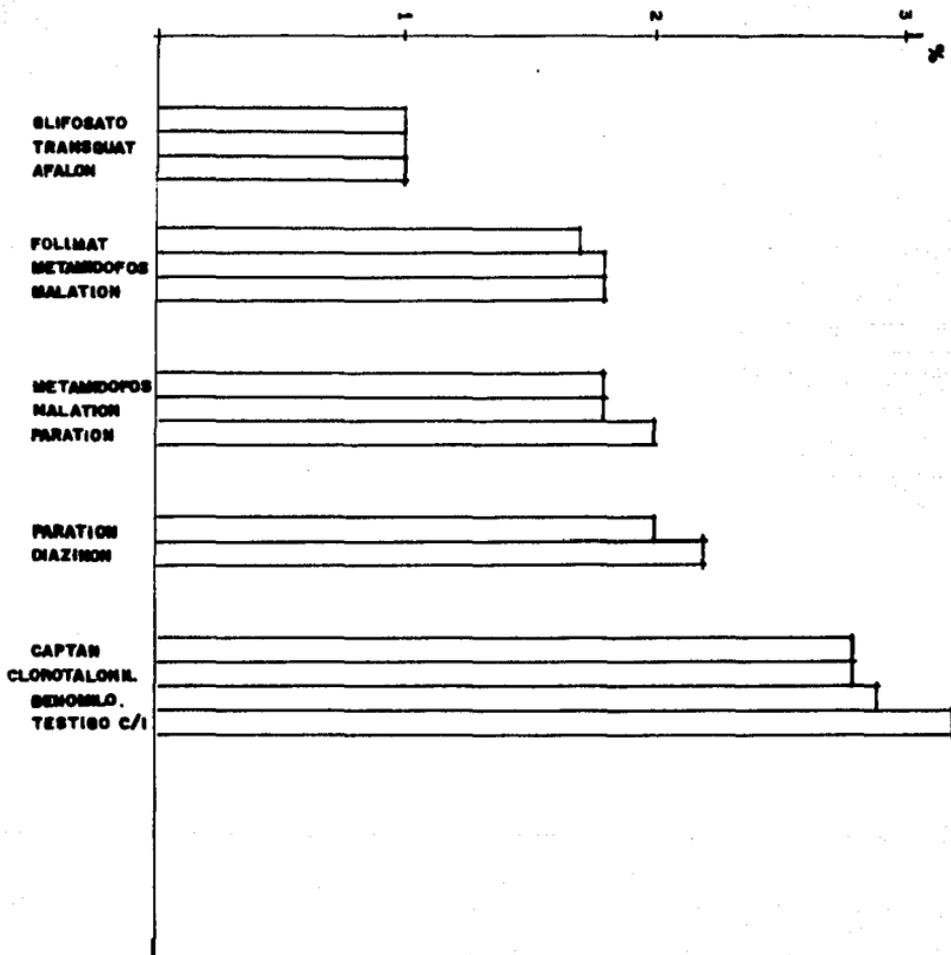
PESO SECO NODULOS
TEZOTLE



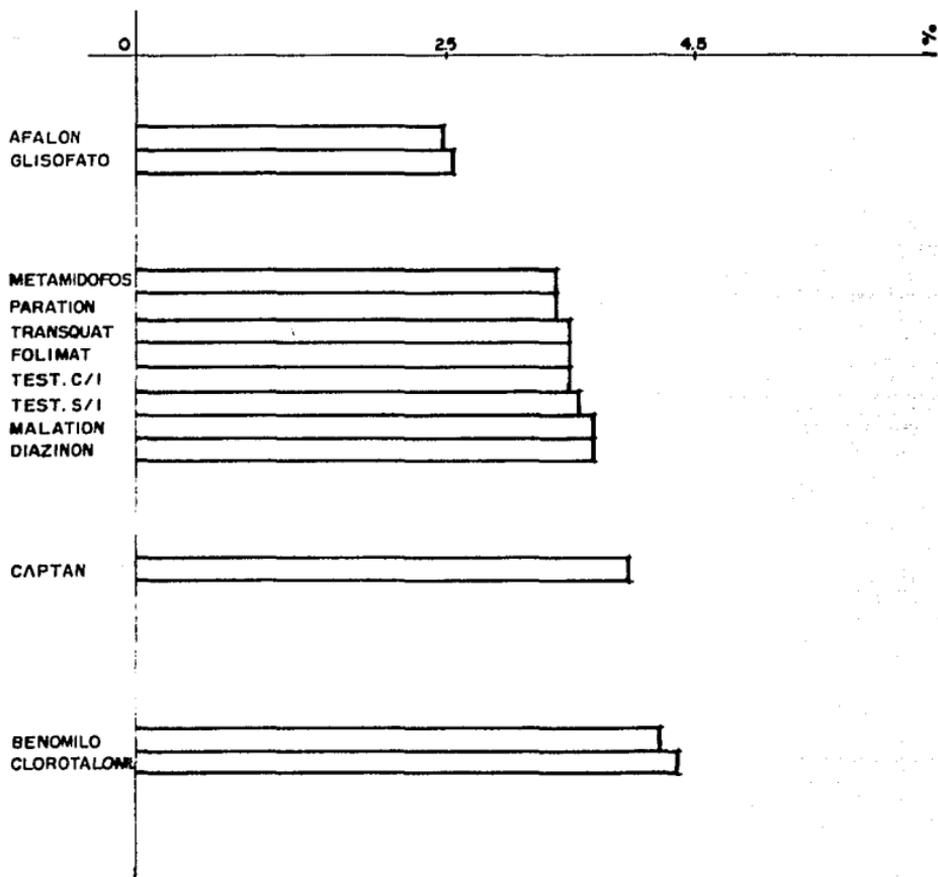
PESO SECO NODULOS.
SUELO AGRICOLA.



PORCENTAJE DE NITROGENO
PARTE AEREA TEZONTLE.



PORCENTAJE DE NITROGENO
PARTE AEREA SUELO AGRICOLA



DISCUSION DE
RESULTADOS

6 DISCUSION DE RESULTADOS

- 6.1 Los resultados de las características físicas y químicas del suelo indican que el Ph y textura corresponden a valores óptimos para la actividad microbiana, lo que se traduce en cantidades bajas de materia orgánica.

El número de bacterias coincide con los valores reportados en la bibliografía en suelos fértiles, en tanto que el número de hongos es muy elevado, especialmente cuando se consideran los valores del pH existente. Esto probablemente -- este relacionado con tratamientos que se dieron al suelo antes de que este fuera colectado.

Respecto al efecto in vitro de los pesticidas sobre el desarrollo de Bradyrhizobium, no se obtuvo respuesta cuando estos se emplearon en concentraciones de 2 a 10 ppm. Por lo que unicamente se reportan los resultados obtenidos con el empleo de concentraciones de 10-3. Observándose de manera general que in vitro, Bradyrhizobium es mas sensible a los insecticidas (excepto el Folimat), que a los fungicidas y herbicidas.

Los resultados, tanto en el sistema con tezontle como en el de macetas indicas que todos los biocidas afectaron el establecimiento de la simbiosis Bradyrhizobium japonicum -- Glycine max, obteniéndose diferencias significativas entre la masa nodular de las unidades tratadas y no tratadas con biocidas. Lo anterior coincide con los resultados de Diatloff (1985) y Chambers y Montes (1982), quienes establecieron que los fungicidas son perjudiciales a Rhizobium y que el Captan no debe usarse en semillas de frijol soja.

El biocida que tuvo mayor efecto sobre la masa nodular corresponde al fungicida Clorotalonil, esta acción se observó en los dos sistemas empleados.

Los herbicidas e insecticidas que determinaron menor masa nodular corresponden a Transquat y Malatión en el sistema con tezontle, en tanto que en el sistema con suelo agrícola a Afalón y Metamidofos.

En la variable peso seco de parte aérea (PSPA) se observó la superioridad de la cepa FQ 17 respecto a la población nativa de rhizobia.

En cuanto al efecto de los biocidas sobre el rendimiento de materia seca se obtuvieron resultados diferentes en cada sistema: en el sistema de macetas con tezontle, todos los biocidas hicieron de crecer en forma significativa a esta variable, en tanto que en el sistema de macetas con suelo agrícola se presentaron tres situaciones: a) todos los herbicidas; insecticidas como Folimat, Diazinón y Metamidofos, y el fungicida Benomilo hicieron decrecer el peso seco; b) el fungicida Clorotalonil afecta ligeramente el rendimiento de materia seca; c) y los insecticidas Malatión, Paratión y el fungicida Captan lo mejoran.

Esto indica que las características del suelo influyeron en la actividad de los biocidas, como lo mencionaron Alexander M (1977) y Fisher y Tasistro (1980) al respecto.

De los resultados de contenido de Nitrogéno en la parte aérea se encontró que tanto la población de rhizobia nativa como la de la cepa FQ 17 tienen una capacidad de fijación de Nitrógeno atmosférico estadísticamente igual. La efectividad de Bradyrhizobia se vió significativamente deprimida por efecto de los tratamientos con los herbicidas; Afalón, Glifosato. Todos los insecticidas, y el herbicida Transquat presentan un efecto deprimente menor sobre la efectividad; y los fungicidas parecen favorecer la capacidad fijadora de Nitrógeno.

Lo anterior coincide con lo reportado por diferentes investigadores: Fisher y Tasistro (1980), reportaron que los herbicidas y en especial el Glifosato afectan el peso seco de la parte aérea.

Barrentine y Frans (1975); Mallik y Tesfai (1985), indicaron que los herbicidas, aún en dosis recomendadas, afectan el peso -- seco de la parte aérea, lo cual fué corroborado en ambos sistemas, observándose menor efecto con el Transquat en presencia de suelo agrícola.

Cuautle, Nuñez y Valdés (1980), reportaron que los fungicidas aumentan la fertilidad del suelo; Mallik y Tesfai (1985) indicaron que el Captan aún en dosis elevadas es inócuo para variables como crecimiento de la planta y que el insecticida malatión no tiene -- efecto nocivo sobre el peso seco de parte aérea ni sobre la fijación de Nitrógeno.

En cuanto a la falta de relación entre los resultados de -- las variables PSPA y % de Nitrógeno en parte aérea en el sistema de macetas con suelo agrícola puede deberse a que la cepa inoculada -- haya producido sustancias del tipo de fitohormonas de crecimiento, que favorecieron el desarrollo foliar, traduciéndose en un incremento en materia seca, lo cuál haría superior, en ésta variable, a la cepa inoculada con respecto a la población nativa, puesto que en -- cuanto a la efectividad en la fijación de Nitrógeno, ambas poblaciones presentan igual capacidad.

C O N C L U S I O N E S
Y
R E C O M E N D A C I O N E S

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

1. Los biocidas empleados en la realización de esta tesis, en concentraciones recomendadas por la SARH son inocuas en el crecimiento de Bradyrhizobium japonicum FQ 17 en pruebas - in vitro.
2. En concentraciones elevadas los biocidas inhiben el crecimiento de Bradyrhizobium japonicum FQ 17 in vitro.
3. Los biocidas empleados afectan la asociación Rhizobium-frijol soja en diferentes grados y probablemente a diferente nivel (establecimiento de la simbiosis, inhibiendo o estimulando la fijación de nitrógeno).
4. Algunos biocidas afectan la nodulación aunque no en todos los casos se afecta el desarrollo de la planta.
5. El efecto de los biocidas sobre Rhizobium varía dependiendo de las condiciones en que se determina (in vitro, en asociación con el hospedero, en ausencia de suelo y en presencia de suelo).
6. Ciertas características del suelo agrícola como textura y CICT influyen en el efecto que los biocidas pueden tener sobre la planta de frijol soja.
7. Se recomienda hacer más estudios sobre el efecto de los biocidas en la asociación Rhizobium- leguminosas, utilizando una variedad más grande de biocidas, así como diferentes concentraciones de tales biocidas, en suelos agrícolas de diferentes características.

8. Se recomienda hacer más estudios sobre el efecto de los biocidas en la asociación Rhizobium-leguminosas utilizando una variedad más grande de biocidas, así como diferentes - concentraciones de tales biocidas, en suelos agrícolas de diferentes características.

8. APENDICE

ANALISIS AL SUELO AGRICOLA

8.1.1) Análisis físicos

- Determinación de pH.

El pH se determinó en un potenciómetro BeckMANN Modelo H2 con la siguiente relación:

Dilución 1:2.5 (suelo: agua)
(Jackson 1976)

- Determinación de % de Humedad

Por pérdida de peso.
(Jackson 1976)

- Determinación de Textura del Suelo

La textura se determinó por el método de Bouyoucos.
(Echegaray A. Gama R M 1984)

- Determinación de Color.

Se determinó mediante el empleo de las Tablas de Munsell.
(Echegaray A, Gama R M 1984)

- Determinación de la Capacidad de Campo

Se determinó de acuerdo al método indicado por la SARH.

(SARH 1975)

8.2.1 Análisis Químicos

- Determinación de Materia Orgánica.

Se usó el método de Walkley y Black modificado para incluir nitratos. (Jackson 1976).

- Determinación de Fósforo.

Para la determinación de fósforo se empleó el método de Olsen.

(Manual de Operación de Laboratorio D.D.F. 1976).

- Determinación de C.I.C.T.

Se determinó la capacidad de intercambio catiónico del suelo por el método de Calcio-Magnesio-Verseno. (Hessel, 1979).

8.2.3. Análisis microbiológicos. Actinomicetos.

- Se cuantificó la población total de bacterias, actinomicetos y hongos mediante el método de dilución en placa. (Echegaray A. Gama R M 1984).

8.2.4. ANALISIS A LAS PLANTAS

- Determinación de número de nódulos.

Los nódulos se separaron de la raíz en forma manual, se contaron y se secaron.

- Determinación de Peso Seco de Nódulos.

Los nódulos se secaron en la estufa a una temperatura de 70°C durante tres días, y se pesaron en una balanza analítica Mettler.

- Determinación de Peso Seco de Parte Aérea.

Para llevar a cabo esta determinación se procedió a secar la parte aérea de las plantas en las mismas condiciones que los nódulos.

8.2.5. ANALISIS QUIMICOS

Para realizar los análisis químicos a las plantas, se molió parte aérea de la planta seca, en un molino Willey tipo intermedio de malla No. 80.

- Determinación de Nitrógeno.

Se utilizó el método del Micro - Kjeldahl.
(Mitchell H, 1979).

SOLUCION DE JENSEN

CaHPO ₄	1 g
K ₂ HPO ₄	0.2 g
MgSO ₄ - 7 H ₂ O	0.2 g
NaCl	0.2 g
FeCl ₃	0.1 g
Agua destilada	1000 ml

MICRONUTRIENTES

H ₃ BO ₃	0.05 %	NaMo. O ₄	0.005%
MnSO ₄	0.05 %	CuSO ₄	0.002%
ZnSO ₄	0.005 %		

Para adicional a las plantas se diluye a 1/5

Se ajusta a pH 6,5-7,0, se esteriliza en autoclave a - 120°C durante 15 minutos.

En la primera semana se le agregó la solución por el tu bo de vidrio colocado en las macetas, con ayuda de un embudo de vidrio. Ya en la segunda semana se les adicionó alternadamente, solución de Jensen y agua esteril cada tercer día. Este procedi miento fue el mismo hasta el término de un mes. Al mes se rega ban en algunos casos diariamente en forma alternada; un día agua esteril y un día solución de Jensen. Al final del experimento - se regaban con agua esteril 3 veces a la semana y 2 veces con - solución de Jensen.

9. BIBLIOGRAFIA

- 1 Agro Síntesis (1987). Informe Especial; Los plaguicidas en México 18 (3); 18-48.
2. Alexander, Martin (1977). Introducción a la Microbiología del Suelo. México, AGT Ed.
- 3 Anuario Estadístico (1986). Secretaría de Programación y Presupuesto.
- 4 Ayres, Gilbert. (1980). Análisis Químico Cuantitativo. -- Harla México 341-343.
- 5 Barrentine, J. y Frans, R. (1975). Assessment of Herbicide Induced Growth Inhibition of Soybean. Weed Science 21 (5) 455-460.
- 6 Bouyoucos G. H. (1936). Direction for making mechanical analysis of soils by the hidrometer method. Soil Science 42: 225-230.
- 7 Chamber, M. A. and Montes, F. (1982). Effects of some seed disinfectants and methods of rhizobia inoculation on soybeans. Plant and Soil 66: 353-360.
- 8 Chemical Week. June 19 (1985). Mac Graw-Hill Publication.
- 9 Clark, F. (1954). A perspective of the Soil Microflora. Soil Microbiology Conference Purdue University U.S.A.
- 10 Cremlyn, R. (1983). Plaguicidas Modernos y su Acción Bioquímica. México, Limusa.

- 11 Cuautle E, Escobar R y Valdés M (1981). Efecto de la fertilización, fumigación del suelo e inoculación con Rhizobium sobre la nodulación y contenido de nitrógeno. Agrociencia (43): 19-35.
- 12 Diatloff, A (1986). Compatibility of Systemic and Non Systemic Fungicides with Rhizobium japonicum applies to soybean seed. Soil Biol. Biochemistry 18(1): 121-122.
- 13 Dirección de Sanidad Vegetal SARH (1986). Límites de Tolerancia de biocidas empleados en cultivos de frijol soja.
- 14 Echegaray A; Gama R M (1984). Prácticas de Microbiología Agrícola. Fac. Química. U. N. A. M.
- 15 Estrada E (1984). Estudio sobre el modo de acción de los Herbicidas. Bioquímica Vegetal, Cuadernos de Posgrado, Fac. Química, U.N.A.M. (11) 39-57.
- 16 Domsch K (1984). Effects of pesticides and heavy metals on biological processes in soil. Plant and Soil (76) 367-378.
- 17 Faizah A.B. (1980). Rhizobia in tropical legumes. XI Survival in the seed environment. Soil Biology Biochemistry 12: 219-227.
- 18 Faizah A. Broughton, W. J. and C K John (1980). Rhizobia in tropical legumes XI Survival in the seed environment. Soil Biology Biochemistry 12: 219-227.
- 19 Fischer A y Tasistro A (1979). Efecto de diversos herbicidas sobre la Simbiosis Rhizobium phaseoli-phaseaolus vulga-

- ris. Agro Ciencia Chapingo (40) 1-23.
- 20 Fischer A (1981). Effects of some fungicides used against cereal pathogens on the growth of Rhizobium trifolii and its capacity to fix nitrogen in white clover. Annual - - Applied Biology (98): 101-107.
- 21 Hessel, P (1979). A textbook of Soil Chemical Analysis. Chemical Publishing, Co. Inc. New York.
- 22 Hilton, J and Jansen, L. (1963). Annual Review of Plant - Physiology 14: 353-384.
- 23 Indicadores del Sector Interno. (1986). Banco de México - Cuadernos 37-45.
- 24 Jackson, L. (1976). Análisis Químicos de Suelos. Ediciones Omega, España: 282-309.
- 25 Khan-Shamat (1980). Pesticides in the soil environment. Elsevier Scientific Publishing Company.
- 26 Mallik, M.A. y Tesfai K. (1985). Compatibility of Rhizobium japonicum with commercial pesticides in vitro. Bull. Environ. Contam Toxicol 31: 432-437.
- 27 Mallik, M.A. y Tesfai, K. (1985). Pesticidal effect on soybean-rhizobia symbiosis. Plant and Soil 85: 33-41.
- 28 Metcalf, L. (1955). Cyclodiene Insecticides. Organic Insecticides. Interscience Publishers.

- 29 Ministerio de Agricultura, España (1973). La Soja 2nd. Edición.
30. Mitchell, H. L. (1972). Microdetermination of Nitrogen in plant tissues. Journal of the A.O.A.C.; (55): 1-3.
- 31 Moreland, D. (1967). Annual Review of Plant Physiology 14: 365-386.
- 32 Munsell (1954). Soil Color Chart. Edition Munsell Color - Co. Inc. Baltimore, Maryland, U.S.A.
- 33 Murphy, S. (1975). Pesticides. Toxicology the Basic Science of Poisons. MacMillan Publishing Co. Inc.: 357-403.
- 34 Pallet, K. and Dodge, A. (1979). Pesticide Science (10): 216-220.
- 35 Planta Industrializadora de Desechos sólidos de San Juan - de Aragón (1976). Manual de Laboratorio. D.D.F. México.
- 36 Reporte sobre producción anual de frijol soja a nivel nacional (1986). Depto. de Agricultura de la Embajada de los EE. UU. en México.
- 37 Secretaría de Agricultura de la República Dominicana (1980) La Soya, Alimento del Futuro. CENDA.
- 38 Urzúa, H. and Romero, J. (1986). Effect of p,p. DDT on nitrogen fixation of white clover in volcanic soils of Chile. MIRCEN Journal; (2): 365-372.
- 39 Waksman, A.S. (1957). Soil Microbiology, 2nd Ed. John Wiley and Sons. Inc. New York, U.S.A.