



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO



**ESTUDIO DEL METAM SODIO (N-METIL DITIOCARBAMATO DE SODIO)
EN AGROECOSISTEMAS INTENSIVOS: EFECTOS EN LA
MICROBIOLOGÍA DEL SUELO, PERSISTENCIA Y FISIOLOGÍA DE
TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)**

Por:

MC Alejandra Hernández Montoya

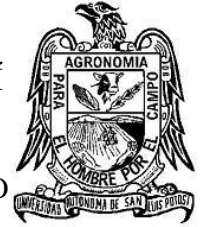
Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de Doctora en Ciencias Agropecuarias.

Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

Junio, 2018



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO



**ESTUDIO DEL METAM SODIO (N-METIL DITIOCARBAMATO DE SODIO)
EN AGROECOSISTEMAS INTENSIVOS: EFECTOS EN LA
MICROBIOLOGÍA DEL SUELO, PERSISTENCIA Y FISIOLOGÍA DE
TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)**

Por:

MC Alejandra Hernández Montoya

Director

Dr. Juan Carlos Rodríguez Ortiz

Co-director

PhD Edgar Moctezuma Velázquez

Asesor

PhD Jorge Alonso Alcalá Jáuregui

Asesora

Dra. Paola Elizabeth Díaz Flores

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de Doctora en Ciencias Agropecuarias.

PAGINA DE APROBACIÓN DE TESIS

El trabajo titulado “**Estudio del Metam Sodio (N-metil ditiocarbamato de sodio) en Agroecosistemas Intensivos: efectos en la microbiología del suelo, persistencia y fisiología de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)**” fue realizado por: **MC Alejandra Hernández Montoya** como requisito parcial para obtener el grado de **Doctora en Ciencias Agropecuarias** y fue revisado y aprobado por el suscrito Sub-Comité de Tesis.

Dr. Juan Carlos Rodríguez Ortiz

Director



PhD Edgar Moctezuma Velázquez

Co-Director



PhD Jorge Alonso Alcalá Jáuregui

Asesor



Dra. Paola Elizabeth Díaz Flores

Asesora



Ejido Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí a los 29 días del mes de junio de 2018.

DEDICATORIA

A **Dios** por su amor e infinita misericordia

A mis increíbles padres Hilario[†] y Alejandra

A Jared y Dominic por iluminar mi vida

A lo más amoroso,
amado e importante,
que cuida, protege,
guía, educa y respalda,
mi familia.

Los amo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme existir, mostrarme su respaldo y por sostenerme siempre.

A mi mamá Alejandra, a Tina, Lupe, Samy, Bella, Yanci, Alfonso, Stuart, Aglae, Jared y Dominic por su amor y apoyo incondicional.

Con mucho cariño a Marcela Cardona por todos sus consejos, apoyo, ánimos y los muchos chocolates compartidos.

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por mi formación Académica.

Al Dr. Juan Carlos Rodríguez Ortiz por darme la oportunidad de realizar este trabajo bajo su dirección y ser mi mentor en las ciencias agronómicas, por su compañerismo y amistad.

Al PhD. Jorge Alonso Alcalá Jáuregui por haberme animado y asesorado para la realización de este trabajo, por su orientación y continuo seguimiento en el desarrollo de este trabajo, por su amistad y apoyo en momentos complicados.

Al PhD. Edgar Moctezuma Velázquez por su colaboración, por poner a mi disposición sus amplios conocimientos, su amistad y ser mi mentor en las ciencias químicas.

A la Dra. Paola Elizabeth Díaz Flores por su compañerismo, colaboración en la realización de éste trabajo, así como su ayuda prestada para lograr este fin y los momentos vividos.

Al Dr. José Luis Lara Mireles director de la FAyV por su invaluable ayuda para poder cursar mis estudios de doctorado.

Al IAF Pedro Pérez Martínez por el trabajo de campo y los buenos momentos vividos durante los muestreos y cosecha, por brindarme su amistad.

Al IA Adrián Herrera Carrizales por su ayuda en trabajo de laboratorio en la FayV.

A la Dra. Catarina Loredo Osti por su amistad de antes y apoyo para la conclusión de este fin.

A los laboratorios de Suelo, Agua y Planta e Ingeniería Ambiental de ésta Facultad en donde desarrolle análisis para éste trabajo de investigación.

Al CIEP de la FAyV por la atención y asesoría recibidos durante el periodo de la realización del doctorado.

A todos mis compañeros de la FAyV: profesores investigadores, profesores, personal administrativo y de campo por sus palabras de aliento y amistad.

Al CONACyT por la beca parcial otorgada para estudios de doctorado registro 327632 del 1° de julio de 2014 a 1° de febrero de 2016.

A todos Ustedes, MUCHAS GRACIAS

CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN DE TESIS	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
Literatura citada	12
1. IMPACTO DEL N-METIL DITIOCARBAMATO DE SODIO EN LA DIVERSIDAD BACTERIANA DE UN SUELO CULTIVADO CON TOMATE (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> L.) EN INVERNADERO	18
Resumen	18
Abstract	19
Introducción	20
Materiales y Métodos	22
Resultados y Discusión	28
Conclusiones	41
Literatura citada	41
2. RELACIÓN DE PRÁCTICAS AGRONÓMICAS CON CONTENIDO Y PERSISTENCIA DEL METIL ISOTIOCIANATO EN SUELO Y EFECTOS EN PLANTAS DE TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) EN POST-TRASPLANTE	48
Resumen	48
Abstract	49
Introducción	51

	Página
Materiales y Métodos	52
Resultados y Discusión	56
Conclusiones	71
Literatura citada	71
CONCLUSION GENERAL	78
ANEXO	80
1.Nota Científica “Sodium N-methyldithiocarbamate impact on soil bacterial diversity in greenhouse tomato (<i>Solanum lycopersicum L.</i>) crop”	81

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.1	Cronograma de fertilización del cultivo de tomate.....	23
1.2	Índices de biodiversidad: riqueza (S), Shannon (H') y Shannon evenness (J') (media \pm DE) para los tratamientos sin MS y con MS en cada etapa fenológica del tomate. MS: N-metil ditiocarbamato de sodio.....	30
2.1	Tratamientos experimentales.....	53
2.2	Análisis físico-químico de la gallinaza.....	53
2.3	Programa de fertilización implementado en las diferentes etapas del cultivo de tomate.....	54

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.1	Perfil genético bacteriano obtenido por la técnica molecular T-RF (tamaño e intensidad de suelo sin tratamiento con MS y suelo tratado con MS, al considerar todas las etapas del experimento (0, 22, 40 y 70 días después del trasplante). MS: N-metil ditiocarbamato de sodio.....	29
1.2	Comparación entre las etapas fenológicas del cultivo de tomate con los índices de riqueza de biodiversidad (S), diversidad (H') y equidad (J') para tratamientos sin MS (a) y con MS (b). MS: N-metilditiocarbamato de sodio.....	31
1.3	<i>Phylla</i> (asignación filogenética) versus % Abundancia relative UTOs, para tratamientos sin MS (a) y con MS (b). MS: N-metil ditiocarbamato de sodio. Dentro de cada fecha de muestreo.....	34
1.4	Análisis de componentes principales en tratamientos sin MS (a) y con MS (b), discriminados por cada fecha de muestreo. MS: N-metil ditiocarbamato de sodio. E: réplicas en cada fecha de muestreo.....	36
1.5	Comportamiento de nitratos en las etapas fenológicas del cultivo a los 22, 40 y 70 días entre tratamientos con MS y sin MS. MS: N-metil ditiocarbamato de sodio.....	38
1.6	Curso en días de las cantidades de N en forma de N-NH ₄ ⁺ , para los tratamientos: T1(blanco), T2 (MS) y T3 (MS y gallinaza) (a) y el porcentaje de nitrificación (b), a los 5, 10 y 15 días de incubación. MS: N-metil ditiocarbamato de sodio.....	40

Figura		Página
2.1	Concentración de Metil Isotiocianato en suelo a los 10 y 25 días después de la aplicación, en los cuatro tratamientos.....	57
2.2	Análisis de regresión lineal entre variables de estudio materia orgánica (%) (a), el fósforo (ppm) (b) con N-metil isotiocianato...	60
2.3a	Dispersión de datos derivados del análisis de componentes principales para el tiempo a los 10 y 25 días después de la aplicación del metam sodio.....	61
2.3b	Dispersión de datos derivados del análisis de componentes principales, para las prácticas agrícolas (tratamientos) después de la aplicación del metam sodio.....	62
2.4	Análisis de clorofila en hojas de plántula de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) a los 5, 17, 24 y 31 días después del trasplante...	65
2.5	Análisis del contenido de prolina en materia seca de hojas de tomate a los 5 y 31 días después del trasplante para cada uno de las practices agrícolas (Tratamientos).....	66
2.6	Análisis de rendimiento cuántico máximo Y(II) (Fv/Fm) en la hoja de plántula de tomate a día 31 después del trasplante a las 0, 9, 12 y 17 horas.....	67
2.7	Análisis de área foliar a los 5 (a), 17 (b), 24 (c) y 31 (c) días después del trasplante de la plántula de tomate.....	68
2.8	Análisis de peso fresco (a y b) y peso seco (c y d) de la plántula de tomate a los 5 y 31 días después del trasplante.....	70

RESUMEN

El constante uso de metam sodio (N- metil ditiocarbamato de sodio, MITC) en la agricultura protegida en México ha atraído la atención de investigadores y productores sobre sus efectos en el ambiente. Algunos estudios del MS están centrados en ensayos de campo abierto y laboratorio. Los reportes en agroecosistemas intensivos (elevada aplicación de insumos y ambiente controlado) son escasos. El objetivo general del estudio es contribuir en los conocimientos básicos sobre el comportamiento e influencia del MITC en dichos agroecosistemas. Dos objetivos específicos fueron establecidos: 1) evaluar los efectos del MITC en la estructura bacteriana y en su funcionalidad a través del proceso de nitrificación; 2) determinar los efectos de las prácticas agrícolas, como la aplicación de abono orgánico y acolchado plástico, con el contenido y persistencia del MITC en el suelo, los efectos en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) recién trasplantadas. Los resultados del primer ensayo, realizado en condiciones de invernadero con cultivo de tomate, muestran que la aplicación al suelo de MITC en dosis de 400 L ha⁻¹ no mostró efecto significativo sobre la riqueza bacteriana (S'), pero sí modificó la estructura de la comunidad (H' y J') en cada una de las etapas fenológicas del cultivo. Los cambios estructurales encontrados no afectaron el proceso de nitrificación del suelo. En el segundo ensayo, se aplicó al suelo una dosis de 600 L ha⁻¹ de MITC para el cultivo de tomate en malla sombra, se obtuvo que la acción conjunta de la aplicación de la gallinaza y acolchado provocaron que el MITC pudiera persistir en el suelo hasta 25 días después del trasplante de tomate. Las propiedades fisicoquímicas del suelo que se relacionaron a los contenidos de MITC, por efecto de la aplicación de gallinaza y acolchado, fueron la materia orgánica y el fósforo aprovechable, que pudieron tener efecto en la retención del MITC. Los contenidos de MITC residual afectaron las plantas de tomate en el contenido de prolina en hoja medido a los 31 días después del trasplante, pero no afectó la clorofila y eficiencia del fotosistema II. El efecto observado en la prolina no afectó el crecimiento de las plántulas, la acción conjunta de la aplicación de gallinaza y acolchado plástico lograron que las plántulas pudieran crecer adecuadamente aún con la presencia del MITC en el suelo a los 25 días después del trasplante, la retención del agroquímico por la materia orgánica, una posible disminución del MITC

en el suelo, así como la suplementación de elementos nutritivos de la gallinaza, pudieron ser las causas de este efecto.

SUMMARY

The constant use of metam sodium (N-methyl dithiocarbamate sodium, MITC) in protected agriculture in Mexico has attracted the attention of researchers and producers about its effects on the environment. Some MS studies are focused on open agricultural field and laboratory tests. Reports on intensive agroecosystems (high application of inputs and controlled environment) are scarce. The general objective of the study is to contribute to the basic knowledge about the behavior and influence of the MITC in said agroecosystems. Two specific objectives were established: 1) to evaluate the effects of MITC on the bacterial structure and its functionality through the nitrification process; 2) determine the effects of agricultural practices, such as the application of organic fertilizer and plastic mulch, with the content and persistence of the MITC in the soil, the effects on recently transplanted tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.). The results of the first trial, carried out in greenhouse conditions with tomato culture, show that the application to the soil of MITC in doses of 400 L ha⁻¹ showed no significant effect on the bacterial richness (S'), The structural changes found did not affect the nitrification process of the soil. In the second trial, a dose of 600 L ha⁻¹ of MITC was applied to the soil for shade cloth tomato culture, it was obtained that the joint action of the application of the poultry manure and mulch caused that the MITC could persist in the soil until 25 days after the tomato transplant. The physicalchemical properties of the soil that were related to the contents of MITC, due to the application of poultry manure and mulching, were organic matter and usable phosphorus, which could have an effect on the retention of the MITC. Residual MITC contents affected the tomato plants in the leaf proline content measured at 31 days after the transplant, but it did not affect the chlorophyll and efficiency of photosystem II. The effect observed in proline did not affect the growth of the seedlings, the joint action of the application of chicken manure and plastic mulch achieved that the seedlings could grow adequately even with the presence of the MITC in the soil at 25 days after the transplant, the retention of the agrochemical by the organic matter, a possible decrease of the MITC in the soil, as well as the supplementation of nutritious elements of the chicken manure, could be the causes of this effect.

INTRODUCCIÓN

Los pesticidas fueron formulados para ayudar en la prevención, destrucción y disuasión de plagas en el medio ambiente, son compuestos tóxicos inorgánicos u orgánicos que están formulados para evitar la destrucción de la vegetación de las plantas (productos alimenticios) por plagas (malas hierbas, hongos, insectos, etc.). Los pesticidas desempeñan un papel fundamental en la producción de alimentos y la contaminación ambiental en todo el mundo (Asantewaa y Asumadu, 2016).

De acuerdo a la FAO (2002), un pesticida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, y los vectores de enfermedades humanas o animales, especies de plantas o animales no deseados que causan daño durante o interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o piensos, o sustancias que pueden administrarse a animales para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos.

Los pesticidas se pueden clasificar o agrupar de acuerdo a plagas que controlan, modo de acción o estructura química. Otra forma es la clasificación química que proporciona información sobre las propiedades físicas y químicas de los plaguicidas (Semen *et al.*, 2016).

Los pesticidas benefician al matar plagas agrícolas y humanas, pero a la vez, generan un costo por su adquisición y aplicación, así como un impacto en la salud humana y el ambiente (Bourguet, 2016). Existen, a nivel mundial, más de 80,000 sustancias químicas diferentes que se usan como pesticidas (Ansari *et al.*, 2013), y se aplican aproximadamente dos millones de toneladas por año (45% en Europa, 25 % en los Estados Unidos de América y 25 % el resto del mundo) (De *et al.*, 2014). Son utilizados en el control de plagas y en la agricultura bajo diversas condiciones climáticas y la protección a los cultivos, disminuyendo y/o eliminando pérdidas de rendimiento, así como en procesos industriales, contribuyendo en la mejora y producción de alimentos y bienes para la creciente población (Begun *et al.*, 2017).

También son utilizados en programas de protección de salud pública para enfermedades a seres humanos transmitidas por vectores como la malaria, el dengue y esquistosomiasis (Nicolopoulou *et al.*, 2016).

Los pesticidas agrícolas se clasifican químicamente en cuatro grandes grupos: organolcorados, organofosforados, carbamatos y piretroides. También se clasifican en cuanto a su uso en insecticidas, herbicidas, bactericidas, etc., y a su función. Los pesticidas de contacto generalmente controlan una plaga como resultado del contacto directo. No penetran en los tejidos de las plantas. Por otro lado, los sistémicos son pesticidas, que son absorbidos por las plantas o los animales y transportados a los tejidos no tratados. Los pesticidas sistémicos penetran los tejidos de la planta y se mueven a través de las hojas, tallos o raíces. Los venenos estomacales matan las plagas de los animales después de la ingestión y deben ser consumidos. Los fumigantes son sustancias químicas que se aplican como gas tóxico o como un sólido o líquido que forma un gas tóxico. El gas penetra en las estructuras o el suelo (Zacharia 2011).

A nivel mundial el 36% de la población laboral activa se emplea en la agricultura (Ansari *et al.*, 2013). La Organización Mundial de la Salud informó que el 23% de las muertes mundiales se deben a factores ambientales modificables en los que se incluye el uso de plaguicida. El trabajo en la agricultura plantea riesgos para los trabajadores rurales cuando están expuestos rutinariamente a los pesticidas (Sena *et al.*, 2017).

Las prácticas agrícolas actuales hacen uso extensivo de pesticidas conocidos por causar efectos negativos a la salud humana, vida silvestre y degradan el medio ambiente siendo necesario un enfoque estratégico en la reducción de agroquímicos (Nicolopoulou *et al.*, 2016). Cuando se aplican plaguicidas en un agroecosistema hortícola intensivo pueden conllevar a efectos e impactos residuales en su aplicación en suelo, agua, planta y atmósfera. Los residuos de los pesticidas agrícolas, en general, son el principal contribuyente a la exposición humana y no se considera actualmente en la práctica de evaluación del ciclo de vida (Frantke y Olivier, 2016). La priorización del desarrollo tradicional sobre el desarrollo sostenible y la complejidad percibida de estrategias alternativas para mejorar los rendimientos de los cultivos han limitado este cambio (Hough Peter, 2013).

La agricultura intensiva en México ha crecido en últimas décadas a raíz del TLCAN. Los cultivos protegidos pasaron de 790 ha en el año 2000 a 23251 ha en el año 2014, por lo que la actividad se encuentra en expansión y tiene un gran potencial de crecimiento ya que el 97% de la producción de hortalizas se realiza en campo abierto (SNITT, 2016).

Como primer paso en las actividades del proceso de producción hortícolas intensivos, es la preparación del suelo, que comprende la labranza y desinfección de los suelos que han sido usados con monocultivos, entre los que se destaca el cultivo del tomate. Hasta la fecha, la fumigación (o vaporización) es el enfoque más efectivo para controlar las plagas transmitidas por el suelo (Parvatha, 2016), ésta tiene como objetivo promover cultivos saludables y productivos, la incidencia de las plagas aumenta con los cultivos frecuentes, especialmente con los monocultivos (Parvatha 2016; Gamliel y Katan, 2005) como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.). La desinfección del suelo es un método esencial para controlar nemátodos transmitidos por el suelo, hongos y bacterias patógenas para prevenir su daño y mantener la producción en los niveles requeridos (Mao *et al.*, 2016).

La fumigación del suelo se realiza mediante la aplicación de plaguicidas tóxicos al suelo por diversos medios, y estos fumigantes se mueven hacia abajo y a través del perfil del suelo y alcanzan los organismos objetivo, los cuales pueden afectar adversamente la cantidad y calidad de las plantas (Sederholm *et al.*, 2017). Los fumigantes del suelo son pesticidas que se usan para controlar una gran variedad de plagas transmitidas por el suelo, incluidos nemátodos, patógenos y malezas, después de la aplicación al suelo, forman rápidamente gas mediante volatilización o transformación química. Mediante la difusión en los poros del suelo y la partición en la fase acuosa del suelo, el gas fumigante desempeña el papel principal para controlar las plagas transmitidas por el suelo (Ajwa *et al.*, 2010). Uno de los principales problemas de los fumigantes actuales es la mala distribución en los lechos de suelo y los cultivadores, se deben considerar métodos de aplicación que logren una distribución más uniforme de los fumigantes. (Chamorro *et al.*, 2016). Por otra parte, los fumigantes pueden causar alteraciones en la nitrificación del suelo, y también se cree que varios factores ambientales afectan o controlan la nitrificación en el suelo (Yan *et al.*, 2017).

Uno de los productos más utilizados actualmente en la desinfección de suelos es el MS, que se utiliza contra varios patógenos transmitidos por el suelo tanto en el cultivo al aire libre como cubierto en suelos húmedos. El MS sufre rápidamente descomposición a su ingrediente activo, metil isotiocianato (MITC) producto tóxico (76 g litro^{-1} a $20 \text{ }^\circ\text{C}$) soluble en agua ($50 \text{ LD (rata)} = 95\text{-}175 \text{ mg kg}^{-1}$) con una presión de vapor 20.7 mm Hg a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, el MITC constituye alrededor del 90% de los productos de degradación de metam-sodio (Ibrahim, 2000), otros productos de descomposición gaseosos incluyen disulfuro de carbono, sulfuro de carbonilo y sulfuro de hidrógeno (Triky-Dotan *et al.*, 2010).

El MITC al difundirse la fase líquida y de vapor del suelo controla nematodos, hongos, malas hierbas e insectos de los cuales se une a las moléculas que transportan oxígeno y evita que los tejidos lo utilicen, las dosis recomendadas para suelos arenosos, pesados y muy pesados son $490\text{-}650$, 800 y 1000 L ha^{-1} , respectivamente, la temperatura del suelo también es un factor crítico en la aplicación efectiva del producto químico MITC: es mejor fluctuar entre $10 \text{ }^\circ\text{C}$ y $30 \text{ }^\circ\text{C}$ a una profundidad de suelo de 10 cm (Parvatha, 2016), de amplia actividad biocida. La descomposición acelerada del MITC se asocia con aplicaciones repetidas del fumigante, relacionado estrechamente con aplicación de pesticidas o compuestos homólogos (Gamaliel y Katan, 2005).

El uso recurrente de los agroquímicos, como el MS, puede empobrecer el suelo y disminuir la porosidad, capacidad de amortiguamiento etc., además de disminuir la fauna microbiana del suelo, la cual tiene como función realiza las reacciones bioquímicas que suceden dentro de este complejo y heterogéneo sistema, viviente y dinámico. El destino de pesticidas en los suelos en México, como en todo el mundo, es preocupante (Ortiz *et al.*, 2014). Los fumigantes en la agricultura requerirán más investigaciones en suelos, condiciones ambientales, comunidades microbianas etc., y conocer la efectividad en la biodiversidad (Ibekwe, 2004). De acuerdo con Sande (2011), los fumigantes también causan daño en las poblaciones microbianas no objetivo benéficas (antagonistas, competidores, parásitos patógenos y hongos micorrícicos).

Estudios realizados por Warton *et al.* (2001), en laboratorio, en suelos de una granja en Australia, muestras tomadas fueron esterilizadas a $100 \text{ }^\circ\text{C}$, por una hora, la cual no eliminó los microorganismos responsables de degradación del MITC. Después se utilizó

agar que contenía MITC como fuente de carbono para los microorganismos, para aislar las bacterias del suelo fresco que presenta una degradación mejorada. De los microorganismos aislados, 11 se parecían a *Rhodococcus* spp., 4 se parecían a *Bacillus* spp y 3 de ellos no fueron identificados. La inoculación con estos aislados agrupados en suelo que había sido esterilizado en autoclave realizaron biodegradación del MITC en ese suelo. El fumigante MITC, es utilizado como fuente de energía y nutriente por los microorganismos. Los fumigantes comúnmente se cree que son de corta vida en el suelo, pero se han encontrado residuos en los suelos años después de la aplicación (Guo *et al.*, 2003)

La asociación planta-comunidad bacteriana es beneficiosa a las plantas, ya que promueve el crecimiento y las protege del estrés, por lo que es muy importante en los ecosistemas naturales y en los agroecosistemas (Herrera and Lebeis, 2016). El comprender estas relaciones, así como el comportamiento de las comunidades bacterianas en el transcurso de la evolución del cultivo o el ciclo de vida de las plantas dentro del ambiente agrícola permite mejorar sosteniblemente la producción. La definición de una red en una comunidad microbiana es un desafío por el alto nivel de diversidad, pero los rápidos avances en las técnicas moleculares han ayudado (Cong *et al.*, 2015), la secuencia de ADN, ofrecen formas de explorar la microbiota del suelo con mayor cobertura y alta resolución (Hartmann *et al.*, 2015).

Una de las piedras angulares de la gestión agrícola es la buena administración del suelo, la intensificación lleva al ecosistema a la degradación y pérdida de productividad a largo plazo y se considera una amenaza a la diversidad mundial, la capacidad de administrar la microbioma del suelo con organismos benéficos sin organismos perjudiciales sería un gran enfoque en la mejora de la producción agrícola (Hartmann *et al.*, 2015).

Los legados microbiológicos después de la fumigación también serán influenciados por las condiciones físicas y químicas (fertilización). La sucesión bacteriana involucra interacción de phyllas con asociaciones como la competencia, depredación y mutualismo. Las prácticas de manejo de suelos agrícolas tienen un efecto en las estructuras microbianas de acuerdo a Wu *et al.*, (2008), quienes encontraron diferencias en la diversidad bacteriana con diferentes prácticas de gestión de la tierra y la

producción de cultivos agrícolas. También en cultivo de canola en invernadero, la utilización del metam sodio (MITC) fue más eficiente al cubrirse el suelo con plástico, mejorando la eficacia del fumigante, reflejado en el crecimiento posterior de la planta y redujo la severidad de la raíz ciliar (Hwang *et al.*, 2017).

Las poblaciones microbianas interactúan entre ellas además del ambiente, temporal y espacialmente, dando a la comunidad atributos de estructura y función (libro). La estructura puede ser conocida o descrita por la diversidad (composición de las especies), quienes cumplen funciones especializadas en los agrosistemas. Los ecosistemas agrícolas tienen suelos distintos y plantean retos sorprendentemente diferentes para la vida microbiana del suelo que, a menudo, no conocemos qué hacen funcional o ecológicamente, estudios clave a menudo combinan métodos basados en la identificación con métodos basados en la actividad (Balser *et al.*, 2010). Los microorganismos son vitales en la degradación de la materia orgánica del suelo, recambio de nutrientes, supresión de patógenos y un componente esencial para los sistemas agrícolas sostenibles (Nguyen *et al.*, 2018).

Las diversas prácticas de los estudios agrícolas limitan su comparabilidad, por un lado, los agrosistemas orgánicos y por el otro los convencionales, pudiera encontrarse entre ambos, estrategias combinadas entre sintéticos y fertilizantes orgánicos (Hartmann *et al.*, 2015). Los xenobióticos (agroquímicos) al no ser degradados, se pueden estabilizar o ser degradados en la rizosfera, adsorbidos (forman parte del humus y podrían entrar a la cadena alimentaria) o acumulados en las raíces y/o ser transportados a las partes aéreas, volatilizados o degradados en el tejido de la planta (El-Sheikh and Ashour, 2010). Es necesario el uso adecuado de los agroquímicos en su aplicación y dosis correctas, tomado en cuenta el rendimiento, el campo, el suelo y variabilidad del cultivo (Nicolopoulou *et al.*, 2016), por otro lado, los pesticidas pueden aumentar en el medio ambiente al no ser descompuestos por las cepas microbianas del suelo (Jaiswal *et al.*, 2017).

La aplicación de insumos agrícolas (como los pesticidas y fertilizantes) y actividades como labranza, cultivo intercalados y de rotación, prácticas de riego, acolchados, aplicación de compostas y/o ácidos húmicos etc., tienen implicaciones en los cultivos, pero también en el microcosmos del suelo.

Los efectos de los plaguicidas en la microbiología del suelo deben determinarse en parámetros funcionales como la mineralización de carbono o nitrógeno, se debe establecer aprobaciones de protocolos con métodos incluyentes de las posibles implicaciones ecológicas de la diversidad bacteriana alterada (Johnsen *et al.*, 2001), ya que son indicativos de la fertilidad del suelo.

La diversidad microbiana del suelo es importante para la agricultura sostenible porque los microbios actúan en procesos que apoyan la producción agrícola. Todos los ecosistemas están compuestos por múltiples especies que desempeñan numerosas funciones. La biodiversidad es un importante motor del funcionamiento de los mismos (Normand *et al.*, 2014). Las comunidades microbianas que impulsan el ciclo del nitrógeno contribuyen a los servicios del ecosistema, como la producción de cultivos y la calidad del aire, el suelo y el agua (Crouzet *et al.*, 2016).

La calidad del suelo es un indicador clave del uso sostenible de la tierra que es la gestión del entorno natural y el entorno construido para conservar los recursos que ayudan a mantener la población humana actual y futura (Zuazo *et al.*, 2011). La materia orgánica del suelo desempeña un papel crucial en la fertilidad de las tierras de cultivo, la protección del medio ambiente y el desarrollo sostenible de la agricultura. Es un continuo de compuestos orgánicos en descomposición progresiva (Lehmann y Kleber, 2015). La agricultura y producción de materiales biológicos (alimentos, biocombustibles, madera, textiles, papel), requiere el mantenimiento de la calidad del suelo (Garrigues *et al.*, 2013). La materia orgánica del suelo está disminuyendo afectando a servicios que sustentan la producción agrícola como el ciclo de nutrientes y control de plagas, las prácticas agrícolas que aumentan la materia orgánica de los suelos proporciona una oportunidad para la intensificación ecológica de los sistemas de cultivo (Garratt *et al.*, 2018). Los suelos fértiles son recursos centrales para la producción de biomasa y la provisión de alimentos y energía. Una población mundial creciente demanda más alimentos y bioenergía, lo que requiere preservar y mejorar la productividad a largo plazo de los suelos como recurso bioeconómico, se deben mantener otras funciones del suelo y los servicios del ecosistema: filtrar el agua limpia, secuestro de carbono, provisión y reciclaje de nutrientes y hábitat para la actividad biológica (Wollschlaeger *et al.*, 2017).

Las bacterias del suelo proporcionan una amplia gama de servicios ecosistémicos, como el ciclo de nutrientes. A pesar de su importante papel en los sistemas del suelo, las respuestas composicionales y funcionales de las comunidades bacterianas a los diferentes regímenes de uso y manejo de la tierra no se comprenden completamente (Kaiser *et al.*, 2016).

En las investigaciones sobre impactos en la estructura de las comunidades microbianas tras sufrir perturbación por la aplicación de pesticidas al suelo, se han utilizado indicadores de biodiversidad como son los índices de riqueza (S), diversidad (H') y equidad (J') (Tipayno *et al.*, 2012), para lo cual, se han utilizado las técnicas moleculares en estudios de la estabilidad funcional de microorganismos (Griffiths *et al.*, 2000, Macalady *et al.*, 1997) así como extracción del ADN bacteriano del suelo (Keshri *et al.*, 2013, Tiquia, 2005, Toyota *et al.*, 1999) etc. La recuperación de las comunidades microbianas del suelo, tratados con fumigantes se han estudiado en suelos esterilizados e incubados mostrando recuperación microbiana después de la aplicación, así como cambios en la estructura microbiana (Ibekwe *et al.*, 2001) en condiciones de laboratorio, en donde existen limitaciones y deben evaluarse con mayor precisión mediante ensayos de campo (Mocali *et al.*, 2015).

Los estudios de MS están centrados en ensayos de campo abierto y laboratorio. Son escasos los reportes en agroecosistemas intensivos, los cuales tiene una dinámica diferente por la elevada aplicación de insumos y ambiente controlado, lo que pueden tener efectos diferentes en la dinámica del MS, la microbiología del suelo, persistencia y fisiología de las plantas.

La aplicación de MS a los suelos en la pre-siembra de cultivos intensivos: podría afectar a la estructura como a la diversidad de las comunidades bacterianas, y procesos de suelo relacionados, que a su vez también afectaría al funcionamiento de las plantas del cultivo. A su vez, las prácticas agronómicas pueden modificar la persistencia del MITC en el suelo y acumulación en la planta

Por lo anterior y con el objetivo general de contribuir en los conocimientos básicos sobre el comportamiento e influencia del MITC en los agroecosistemas intensivos, se realizó el presente estudio con los siguientes objetivos específicos.

Objetivos específicos:

1. Estudiar los efectos del N-metil ditiocarbamato de sodio en la diversidad bacteriana del suelo a través del índice de riqueza S), diversidad (H') y equidad (J').
2. Evaluar el efecto del MITC en la funcionalidad de la microbiología bacteriana del suelo para realizar la nitrificación con la aplicación del N-metil ditiocarbamato de sodio.
3. Estudiar el efecto de prácticas agrícolas, como la aplicación de abono orgánico con y sin acolchado plástico con aplicación del MS, en el contenido y persistencia del MITC durante las etapas fenológicas del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Con estos estudios se estará contribuyendo al conocimiento sobre la efectividad del MS y los efectos que pueda tener en el suelo, haciendo un uso más eficaz y racional, así como la repercusión de su empleo en el ambiente del agroecosistema; guiando a mejorar las prácticas agrícolas y de conservación, esperando un crecimiento e inversiones en estrategias benéficas a la conservación de recursos los cuales son el sostén de nuestra producción, por lo cual al identificar las áreas agrícolas con problemas y poder controlar cambios en la sostenibilidad relacionado al manejo empleado a los suelos se colaborará hacia una agricultura sostenible.

LITERATURA CITADA

- Ajwa, Husein., W. J. Ntow, R. Qin and S. Gao. 2010. Properties of Soil Fumigants and Their Fate in the Environment. Hayes Handbook of Pesticide Toxicology. Copyright © Elsevier Inc. All rights reserved, pp 315-330.
- Alletto, L., Y. Coquet, P. Benorr, D. Heddadj, E. Barriuso. 2010. Tillage management effects on pesticide fate in soil. A Review. *Agron., Sustain. Dev.* 3, pp 367-400.
- Ansari, Shafiq M., Maher Ahmed Moraiet, Salman Ahmad. 2013. Environmental Deterioration and Human Health. Chapter: Insecticides: Impact in the Environment and Human Health. *Environmental Deterioration and Human Health*. Ed. Springer, pp 99-123.
- Asantewaa, Phebe., S. Asumadu. 2016. Revisiting the Environmental Interactions of Pesticides. *International Journal of Environmental Chemistry*, 1:1, pp 14-19
- Balser T. C., D. Wixon, L. K. Moritz, L. Lipps. 2010. The Microbiology of Natural Soils. In: Dixon G., Tilston E. (Eds) *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production* pp 27-57. Springer, Dordrecht. doi.org/10.1007/978-90-481-9479-7_2.
- Bourguet, D., T. Guillemaud. 2016. The Hidden and External Costs of Pesticide Use. In: Lichtfouse E. (eds) *Sustainable Agriculture Reviews*. Sustainable Agriculture Reviews, vol. 19. Springer, Cham
- Carvalho P., Fernando. 2006. Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science & Policy*. 9:7-8, pages 685-692.
- Cong Jing., Y. Yang, X. Liu, H. Lu, X. Liu, J. Zhou, D. Li, H. Yin, J. Ding and Y. Zhang. 2015. Analyses of soil microbial community compositions and functional genes reveal potential consequences of natural forest succession. *Scientific Reports*. DOI: 10.1038/srep10007.
- Crouzet, Oliver., F. Poly, F. Bonnemoy, D. Bru, I. Batisson, J. Bohatier, L. Philippot, C. Mallet. 2016. Functional and structural responses of oil N-cycling microbial communities to the herbicide mesotrione: a dose-effect microcosm approach. *Environmental Science and Pollution Research*, 23: 5, pp 4207-4217.

- Chamorro, M., T. E. Seijo, J. C. Noling, B. De los Santos, N. A. Peres. 2016. Efficacy of fumigant treatments and inoculum placement on control of *Macrophomina phaseolina* in strawberry beds. *Crop Protection* 90, pp 163-169.
- De, A., R. Bose, A. Kumar, S. Mozumdar. 2014. Worldwide pesticide use. In: De A, Bose R, Kumar A, Mozumdar S (eds) Targeted delivery of pesticides using biodegradable polymeric nanoparticles. Springer, New Delhi, pp 5–6
- El-Sheikh E.A., Ashour MB.A. 2010. Biodegradation Technology for Pesticide Toxicity Elimination. In: Fulekar M.H. (eds) Bioremediation Technology. Springer, Dordrecht. pp 167-205.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2002. www.fao.org/docrep/W1604S/w1604s04.htm Consulta: Enero, 2018.
- Frantke, Peter y Olivier Jolliet. 2016. Life cycle human health impacts of 875 pesticides. *The International Journal of Life Cycle Assessment*. 21:5, pp 722-733.
- Gamaliel, A. and J. Katan. 2005. Desinfestation. Elsevier Ltd. All Rights reserved.
- Garratt, M. P. D., R. Bommarco, D. Kleijn. 2018. Enhancing Soil Organic Matter as a Route to the Ecological Intensification of European Arable Systems. *Ecosystems*. <https://doi.org/10.1007/s10021-018-0228-2>
- Garrigues, E., M. S. Corson., D. A. Angers. 2013. *Int J Life Cycle Assess* 18: 1316-1324. <https://doi.org/10.1007/s11367-013-0586-0>
- Guo, M. X., S. K. Papiernik, W. Zheng, S. R. Yates. 2004. Effects of environmental factors on 1,3-dichloropropene hydrolysis in water and soil. *J. Environ. Qual.*, 33, pp. 612-618.
- Griffiths, B.S., K. Ritz, R.D. Bardgett, R. Cook, S. Christensen, F. Ekelund, S.J. SNITT (Agencia Nacional de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología Agrícola) 2016- 2022. 2016. SAGARPA-SNITT, Primera Edición, p192.
- Sorensen, E. Baath, J. Bloem, P.C. De Ruyter, J. Dolfing, B. Nicolardot. 2000. Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity-ecosystem function relationship. *Synthesising Ecology*. 90:2. p 279.294.

- Hartmann, Martin, B. Frey, J. Mayer, P. Maeder and F. Widmer. 2015. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *International Society for Microbial Ecology*, 9, pp 1177–1194.
- Herrera-Paredes, Sur and S. L. Lebeis. 2016. Giving back to the community: microbial mechanisms of plant-soil interaction. *Ecosystem, Evolution and Plant-Soil feedbacks*. British Ecology Society. 30:7, pp 1043-1052.
- Hough, P. 2014. The Trading and Use of Agrochemicals. In: Campbell W., S. López-Ortíz (eds) *Sustainable Food Production Includes Human and Environmental Health. Issues in Agroecology – Present Status and Future Prospectus*, 3. Springer, Dordrecht, pp1-41.
- Keshri, Jitendra., Avinash Mishra, Bhavanath Jha. 2013. Microbial population index and community structure in saline–alkaline soil using gene targeted metagenomics. *Microbiological Research*, 168, pp 165– 173.
- Hwang, S. F., H. U. Ahmed, S. E. Strelkov. 2017. Effects of rate and application method on the efficacy of metam sodium to reduce clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) of canol. *Journal of Plant Pathology*. Ed. Springer Netherlands. Print ISSN 029-1873.
- Ibekwe, A. Mark. 2004. Effects of Fumigants on Non-Target Organisms in Soils. *Advances in Agronomy*. 83. p 1-35.
- Ibekwe, A. Mark, S. K. Papiernik, J. Gan, S.R.Yates, Ch. H. Yang and D.E. Crowley. 2001. Impact of fumigants on Soil Microbial. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:7. **3245-3257.**
- Ibrahim, A., M. Saeed, D. I. Rouse and J. M. Harkin. 2000. Methyl isothiocyanate volatilization from fields treated with metam-sodium- *Pest Manag Sci.*, 56, pp 813-817.
- Jaiswal, D.K., J. P. Verma, J. Yadav. 2017. Microbe Induced Degradation of Pesticides in Agricultural Soils. In: Singh S. (eds) *Microbe-Induced Degradation of Pesticides*. Environmental Science and Engineering. Springer, Cham. DOI https://doi.org/10.1007/978-3-319-45156-5_8.
- Jingcheng, Yang., H. Xianguo, H. Jianhui, P. Qingmin. 2003. The Dynamics of soil organic matter in cropland responding to agricultural practices. *Acta Ecologica Sinica*. 23:4, PP 787-796.

- Johnsen, K., C.S. Jacobsen, V. Torsvik and J. Sorensen. 2001. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils-a review. *Biol Fertil Soils* 33: 443. <https://doi.org/10.1007/s003740100351>.
- Kaiser, Kristin., B. Wemheuer, V. Korolkow, F. Wemheuer H. Nacke, I. Schöning, M. Schrumpf, R. Daniel. 2016. Driving forces of soil bacterial community structure, diversity, and function in temperate grasslands and forests. *Microbial Ecology* 6, doi:10.1038/srep33696
- Khaled, Hussein and H.A.Fawy. 2011. Effect of Different Levels of Humic Acids on the Nutrient Content, Plant Growth, and Soil properties under Conditions of Salinity. *Soil and Water Res.*, 6:1, pp 21-29.
- Lehmann, J., and M. Kleber. 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature (International Journal of Science)*, 528, pp 60-68.
- Macalady, J.L., M.E. Fuller and K.M. Scow. 1997. Effects of Metam Sodium Fumigation on Soil Microbial Activity and Community Structure. *Journal of Environmental Quality*. 27:1. p 54-63.
- Mao, Liangang., Q. Wang, D. Yan, Y. Li, C. Ouyang, M. Guo, A. Cao. 2016. Flame soil desinfestation: A novel, promising, non-chemical method to control soilborne nematodes, fungal and bacterial pathogens in China. *Crop Protection*, 83, pp 90-94.
- Mocali, S.; Landi, S. Curto, G. Dallavalle, E. Infantino, A. Colzi, C.; d'Errico, G. Roversi, P.F.; D'Avino, L.; and Lazzeri, L. 2015. Resilience of soil microbial and nematode communities after biofumigant treatment with defatted seed meals. *Industrial Crop and Products*. 75: 79-90, part A.
- Mohan, G., Manish and P. Kumar Aryan, 2015. Pesticides use and their impact on environment and health in Uttar Pradesh: A review. *Environmental Conservation Journal* 16(18:2) pp 117-127.
- Nguyen, Duy Binh., M. T. Rose, T. J. Rose, L. van Zwieten. 2018. Effect of glyphosate and commercial formulation on soil functionality assessed by substrate induced respiration and enzyme activity. *European Journal of Soil Biology*, 85, pp 64-72.
- Nicolopoulou-Stamati, Polyxeni., Sotirio Maipas, Chrysanthi Kotampasi, Panagiotis Stamatis and Luc Hens. 2016. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent

- Need for New Concept in Agriculture. *Frontier in Public health*. Volume 4, Article 148. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00148>.
- Normand, Philippe., R. Durán, X. Le Roux, C. Morris, J-C. Poggiale. 2014. Biodiversity and Microbial Ecosystems Functioning. *Environmental Microbiology: Fundamental and Applications*, pp 261-291.
- Ortiz-Hernández, M. Laura, Alexis Rdríguez, Enrique Sanchez-Salinas, M. Luisa Castrejón-Godínez. 2014. Chapter: Bioremediation of soil contaminated with Pesticides: Experiences in México. Ed. Springer online, pp 69-99.
- Parvahta, Reddy. 2016. Sustainable Crop Protected Cultivation. Chapter: Desinfestation of Soil and Growth Media for Management of Soilborne Diseases. Ed. Springer. pp 47-60.
- Peng Xinhua, R. Horn and P. Hallett. 2015. Soil structure and its functions in ecosystems: Phase matter & scale matter. *Soil & tillage Reseache*. (Ed.) Elsevier. 146, pp 1-3.
- Sande, Doris; Jeffrey Mullen, Michael Wetztein and Jack Houston. 2011. Environmental Impacts from pesticide Use: A case study of soil fumigation in Florida tomato production. *Int. J. Environ. Res. Public Healt*; 8. pp 4649-4661.
- Sederholm, Maya R., B. W. Schmitz, A. Barberán, I. L. Pepper. 2017. Effects of metam sodium fumigation on the abundance, activity, and diversity of soil bacterial communities. *Applied Soil Ecology*. Available online 31 October 2017.
- Semen S., S, Mercan., M. Acikkol. 2016. A General Overview of Pesticides in Soil: Requirement of Sensitive and Current Residue Analysis Methods. In: Kars H., Van den Eijkel L. (eds) *Soil in Criminal and Environmental Forensics*. Soil Forensics. Springer, Cham, pp 163-180. Online ISBN 978-3-319-33115-7.
- Sena, Tereza Raquel R., A. R. Antonioli. 2017. Hearing Loss Induced for Pesticides in a rural Worker: A Case Report. *Journal of Otolaryngology Avanced*, 2:1, pp 12-16.
- Tipayno, S., K. Chang-Gi and S. Tongmin. 2012. T-RFLP analysis of structural changes in soil bacterial communities in response to metal and metalloid contamination and initial phytoremediation. *Applied Soil Ecology*, 61, pp 137-146.
- Tiquia, S.M. 2005. Microbial Community Dynamics in Manure composts based on 16S and 18S rDNA T-RFLP. *Environmental Technology*, 26, 1101-1113.

- Toyota, Koki., K. Ritz, S. Kuninanga and M. Kimura. 1999. Impact of fumigation with metam sodium upon soil microbial community structure in two Japanese soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 45:1, pp 207-223.
- Triky-Dotan, S., M. Ofek, M. Austerweil, B. Steiner, D. Minz, J. Katan and A. Gamliel. 2010. Microbial aspects of accelerated degradation of metam sodium in soil. *Phytopathology* 100, 367-375.
- Tscharntke, T., Y. Clough, T. C. Wanger, L. Jackson, I. Motzke, I. Perfecto. 2012. Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biol Conserv*, 151, pp 53–59.
- Warton, B., J. N. Matthiessen, & M. M. Roper. 2001. The soil organisms responsible for the enhanced biodegradation of metham sodium. *Biol. and Fertility of Soils*, 34:4, pp 264-269.
- Wu, Tiehang., D. O. Chellemi, J. H. Graham, K. J. Martin, E. N. Rosskopf. 2008. Comparision of Soil Bacterial Communities Under Diverse Agricultural Land Management and Crop Production Practices. *Microbial Ecology*, 55:2, pp 293-310.
- Yan, Dongdong., Q. Wang, Y. Li, C. Ouyang, M. Guo, A. Cao. 2017. Analysis of the inhibitory effects of chloropicrin fumigation on nitrificatin in various soil types. *Chemosphere*, 175, pp 459-464.
- Zacharia, T. J. 2011. Identity, physical and chemical properties of pesticides. In: Stoytcheva M (ed) *Pesticides in the modern world – trends in pesticides analysis*. InTech, Rijeka, pp 1–18.

SODIUM N-METHYLDITHIOCARBAMATE IMPACT ON SOIL BACTERIAL DIVERSITY IN GREENHOUSE TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) CROP
IMPACTO DEL N-METIL DITIOCARBAMATO DE SODIO EN LA DIVERSIDAD BACTERIANA DE UN SUELO CULTIVADO CON TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN INVERNADERO

RESUMEN

El uso constante de metam sodio (N-metilditiocarbamato de sodio, MS) en la agricultura protegida en México ha atraído la atención de investigadores y productores sobre sus efectos en el ambiente. El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto del MS en la estructura y función de la comunidad bacteriana en un suelo agrícola con cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) considerando las diferentes etapas fenológicas del cultivo. El experimento se realizó en invernadero, con un diseño de bloques completamente al azar con dos tratamientos: 1) sin MS y 2) con aplicación de 400 L·ha⁻¹ de MS. Para la determinación de la estructura bacteriana se utilizaron los índices de biodiversidad: riqueza (S), diversidad (H') y equidad (J') e identificación de unidades taxonómicas operacionales (UTO) a través de la técnica T-RFLP. La función se determinó por el proceso de nitrificación en el suelo. La aplicación de MS en suelo no mostró efecto significativo sobre la riqueza bacteriana (S). Sin embargo, la aplicación del MS si modifico la estructura de la comunidad bacteriana (H' y J') en cada una de las etapas fenológicas del cultivo. Dentro de las bacterias identificadas, la *phyllo* *Proteobacteria* presentó más cambios en los porcentajes de las abundancias relativas (UTO) relacionadas a la presencia del MS. Los cambios estructurales en la comunidad bacteriana encontrados no se reflejan el proceso de nitrificación del suelo. Finalmente se identifica la necesidad de incluir en futuros estudios la evaluación de los efectos del MS en la fisiología de cultivos intensivos su función y persistencia en diversos tipos de suelo.

Palabras clave: Índices de biodiversidad, suelo, nitrógeno, T-RFLP, comunidad bacteriana.

ABSTRACT

The constant use of metam sodium (sodium N-methyldithiocarbamate, MS) in protected agriculture in Mexico has attracted the attention of researchers and producers on their effects on the environment. The objective of this study was to evaluate the impact of MS on the bacterial community structure in an agricultural soil with tomato crop (*Solanum lycopersicum* L.) considering the different phenological stages of the crop. The experiment was carried out in a greenhouse, with a completely randomized block design with two treatments: 1) without MS and 2) with application of 400 L·ha⁻¹ of MS. For the determination of the bacterial structure, the biodiversity indexes of wealth (S), diversity (H') and equity (J'), identification of operational taxonomic units (OTU) through the T-RFLP technique were used. The function was determined by the nitrification process in the soil. Application of MS in soil showed no significant effect on bacterial (S) richness. However, the application of MS does alter the structure of the bacterial community (H' and J') in each of the phenological stages of the culture. Application of MS in soil showed no significant effect on bacterial (S) richness. However, the application of MS does alter the structure of the bacterial community (H' and J') in each of the phenological stages of the crop. Among the bacteria identified, the phyla *Proteobacteria* showed more changes in the relative abundance percentages (OTU) related to the presence of MS. The structural changes in the bacterial community found are not reflected in the N-NO₃⁻ content of the soil. Finally, the need to include in future studies the evaluation of the effects of MS on the physiology of intensive crops and functions in different soil types.

Key words: biodiversity indexes, soil, nitrogen, T-RFLP, bacterial community.

INTRODUCCIÓN

El metam sodio (N-metilditiocarbamato de sodio, MS) es un desinfectante de suelos agrícolas del grupo de los tiocarbamatos. El MS se aplica en el cultivo de tomate en condiciones de invernadero. En México, el uso del MS ha aumentado debido al incremento de la superficie con sistema de agricultura protegida. Actualmente, la superficie con dichos sistemas comprende más de 23000 hectáreas (SNITT, 2016). Esta área sigue en incremento a razón de 1200 ha·año⁻¹ (AMPHAC, 2016). En estos sistemas, el tomate (*Solanum lycopersicon* L.) es el cultivo más importante porque representa el 70% de la superficie total protegida. El cultivo de tomate en invernadero se lleva a cabo como monocultivo intensivo, lo que orienta, en su mayoría, a la aplicación del MS durante el inicio de cada ciclo agrícola para la prevención en enfermedades provocadas por *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Verticillium* spp. y *Sclerotinia* spp., entre otras especies (Laincon, 2010).

El MS se transforma a metil isotiocianato (MITC) cuando se aplica en suelos húmedos y se distribuye como gas en el suelo (Triky *et al.*, 2009, Laincon, 2010). En lo general, los pesticidas, como el MS, afectan a las poblaciones microbianas nativas y no objetivo del suelo. Estas poblaciones pueden tener una recuperación crítica después de la fumigación, pero sobre ello se sabe poco (Sande *et al.*, 2011, Dangi *et al.*, 2015).

La diversidad de las poblaciones bacterianas del suelo, de acuerdo al impacto de MS, pueden ser estimadas por los índices de biodiversidad: riqueza (S), diversidad (H') y equidad (J') (Typaino *et al.*, 2012). Tales índices pueden ser obtenidos a partir de unidades taxonómicas operacionales (UTO) utilizando asignación filogenética determinadas a través de la técnica molecular de T-RFLP (poliformismos de longitud de fragmentos de restricción) (Tiquia 2005). Dicha técnica puede estudiar un mayor porcentaje de microorganismos del suelo en comparación a los métodos independientes de cultivo, en donde menos del 1% de los microorganismos pueden ser cultivados (Trosvik y Ovreas, 2002).

Las aplicaciones de los plaguicidas en suelos agrícolas deben ser minimizados, ya que pueden afectar las funciones del suelo, por lo tanto, del ecosistema (Prakash *et al.*, 2014). En este contexto se requiere el análisis de la composición y el comportamiento de

las comunidades microbianas del suelo después de la fumigación, con la finalidad de determinar el impacto de los agroquímicos sobre el estatus funcional de un suelo (Mocali *et al.*, 2015). Una de estas funciones se puede ver reflejada por el proceso de nitrificación en el suelo, mismo que relaciona la actividad microbiana.

Las comunidades microbianas del suelo interactúan entre sí, y con las especies vegetales, y compiten por nutrientes. De esta forma, los consorcios de microorganismos participan activamente en los ciclos biogeoquímicos, como el del nitrógeno biodisponible, el cual es indispensable para el crecimiento de las plantas, la fijación del nitrógeno se realiza por grupos filogenética y fisiológicamente diversos. El nitrato (NO_3^-) es la principal fuente para el crecimiento de las plantas, pero puede ser utilizado simultáneamente por los microorganismos del suelo, éstos además inciden en la nutrición de plantas, en la degradación de xenobióticos y en las funciones de un ecosistema (Amadou y Huang, 2013, Keshri 2013, Di Ciocco *et al.*, 2014).

En relación a los microorganismos que habitan en el suelo después de la fumigación, existen limitaciones en los experimentos realizados en laboratorio, los cuales deben evaluarse con mayor precisión mediante ensayos de campo (Mocali *et al.*, 2015). A diferencia de los sistemas de producción agrícola a campo abierto, en los sistemas de agricultura protegida debe considerarse su dinámica ambiental, la cual es diferente por su manejo principalmente con respecto a nutrientes, humedad relativa, temperaturas, etc.

Las actividades agrícolas intensivas, que utilizan la aplicación de MS al suelo pudieran afectar la estructura y función de la comunidad microbiana durante el desarrollo de cultivos protegidos, se realiza la presente investigación con objetivo de evaluar el impacto del MS en la estructura bacteriana de un suelo agrícola con cultivo de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) en invernadero, en las diferentes etapas fenológicas del mismo, a través de los índices de biodiversidad: riqueza (S), diversidad (H') y equidad (J'), identificación por bases de datos a unidades taxonómicas operacionales (UTO), así como sus efectos en el proceso de nitrificación en el suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Dos ensayos fueron realizados para despejar la hipótesis, que el MS afecta a los microorganismos microbiológicos del suelo y subsecuentemente a la funcionalidad mediante el proceso de nitrificación.

Estudio del Efecto del MS en la Estructura Microbiana

Sitio de estudio

Este estudio se realizó en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México (22° 13' 48'' N y 100° 51' 35'' O, 1834 msnm). El clima de la zona es clasificado como semiárido, con promedio de lluvias de 450 mm y una temperatura anual media de 21°C (INEGI 2016). El estudio se estableció en un invernadero experimental de 135 m² de área y 506.25 m³ de volumen, con cubierta de polietileno (tricapa de 608 galgas), orientado en dirección norte-sur.

Características del suelo

Las características del suelo fueron determinadas al inicio del estudio utilizando los métodos de la Norma Oficial Mexicana de Análisis de Suelo (NOM-MX-021-RECNAT 2001). Para ello una muestra compuesta fue analizada obteniendo los siguientes valores: limo 20 %, arena 61 %, arcilla 19 % (franco arenoso), materia orgánica 1.5 % (bajo), potasio intercambiable 1.2 C⁺ mol kg⁻¹ (alta), fósforo aprovechable 6 ppm (medio), nitrógeno inorgánico 10 ppm (muy bajo), pH en el extracto de saturación 8.17 (medianamente alcalino), conductividad eléctrica 0.86 dS·m⁻¹ (efectos despreciables de salinidad). La humedad del suelo al momento de la fumigación fue a capacidad de campo. El suelo se preparó una semana antes de la aplicación de MS con dos pasos de rastra y la adición de gallinaza en dosis equivalente a 4 t·ha⁻¹.

Diseño experimental y tratamientos

El ensayo se realizó en el invernadero experimental, los tratamientos que se involucraron en este estudio fueron: 1) sin aplicación de MS (testigo), y 2) con aplicación única de 400 L·ha⁻¹ de MS. El tratamiento dos se aplicó de manera preventiva contra enfermedades del suelo, tal como lo realizan los productores en parcelas de producción. La fuente del MS fue Vapam al 45 %, en estado líquido (Buckman Lab. SA

de CV, EUA). La temperatura del suelo al momento de la aplicación del MS fue 30 °C a 25 cm de profundidad y humedad del 20 %. Inmediatamente a la aplicación del fumigante, el suelo se cubrió con polietileno negro para evitar su volatilización, y se mantuvo así por 18 días.

El diseño experimental fue de bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento y las unidades experimentales fueron parcelas de 2.2 m². La justificación del diseño experimental es considerar la heterogeneidad del suelo y reducción de la varianza, según se ha usado en estudios de diversidad microbiana en suelos (Feng *et al.*, 2003, Wang *et al.*, 2014, Wei *et al.*, 2016).

Manejo del cultivo de tomate

A los 22 días después de la aplicación del MS, se trasplantaron plántulas de tomate variedad Aníbal (Harris Moran, EUA) de crecimiento indeterminado, con 4-5 hojas verdaderas a una distancia de 30 cm entre ellas y 160 cm entre hileras o camas. El programa de fertilización se muestra en el Cuadro 1, el cual fue diseñado para cada una de las etapas fenológicas del cultivo (vegetativa, floración y fructificación) (Castellanos 2008). Durante la evolución del cultivo, la fertirrigación se ajustó a pH de entre 6 y 6.5, con conductividades eléctricas entre 2 y 2.5 dS·m⁻¹. Los riegos se realizaron con el uso de tensiómetro (Irrometer, EUA) manteniendo una tensión de humedad de entre 10 y 14 centibares. La fluctuación para las temperaturas en el periodo de estudio fue de 20 a 30 °C y humedades relativas de 40 a 70 %.

Cuadro 1.1. Cronograma de fertilización del cultivo de tomate.

Fertilizante	8 a 25 DDT	26 a 45 DDT	46 a 70 DDT
		(kg ha ⁻¹ día ⁻¹)	
N	1.0	2.0	6.0
P₂O₅	1.0	1.5	1.5
K₂O	2.0	4.0	10.0
Ca	1.8	3.0	3.5
Mg	0.6	1.0	2.0

DAT=días después del trasplante

Análisis de muestras de suelo

Muestreo

Se realizaron cuatro muestreos de suelo, el primero se tomó 15 días antes de la aplicación del MS, el segundo muestreo fue a los 22 días después de aplicar el MS (momento de trasplante), el tercero a los 40 días después del trasplante (en floración) y el cuarto a los 70 días después del trasplante (primer corte del fruto).

El procedimiento de muestreo consistió en tomar tres muestras de cada parcela a una profundidad de 25 cm (30 g por muestra) y al mezclarlas se formó la muestra compuesta para cada parcela. Las muestras se almacenaron en tubos plásticos esterilizados y se trasladaron a laboratorio en hielera a una temperatura de 4°C para mantener conservada la muestra para su posterior análisis.

Extracción de ADN

El ADN total de las comunidades microbianas del suelo fue extraído de muestras compuestas de 10 g de suelo, con el kit Power Soil DNA (MoBio, Carlsbad, California, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN genómico extraído se purificó con el kit DNA Clean and Concentrator (Zymo Research, Irvine, California, EE.UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Análisis de T-RFLP

El ADN total extraído de las muestras de suelo fue utilizado como molde para la amplificación por PCR de un fragmento de 1.5 kb de la región del ADN ribosomal 16S, con par de cebadores universales para bacterias (F27, 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG- 3' y R1492, 5' TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT-3') (Lane 1991). El cebador F27 fue marcado con 6-carboxifluoresceína (6-FAM) en el extremo 5'. Las amplificaciones por PCR con cebadores marcados se realizaron en un termociclador personal MultiGene Mini (Labnet), la reacción se llevó a cabo en un volumen de 25 µl; cebador F27-FAM a 0.2 µM; cebador R1492 a 0.2 µM; 1 U de enzima MyTaq polimerase (Biolane, Reino Unido) y 3 µl de ADN (1:20 v:v). El ciclado fue de 5 min a 94 °C para la desnaturalización inicial, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 45 s, hibridación a 50 °C durante 45 s, extensión a 72 °C durante 2 min y 10 min a 72 °C como extensión final. La amplificación por PCR se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa 1%, los productos marcados de PCR con el tamaño

esperado fueron purificados utilizando el kit Clean DNA Concentrator (Zymo Research, Irvine, California, EE.UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los productos purificados de la PCR (10 μ L) fueron digeridos con la endonucleasa de restricción *NdeI* (Thermo Fisher Scientific) a 37°C durante 2 h, seguido de un paso de inactivación a 60 °C por 10 minutos. El tamaño de los fragmentos de restricción terminales (T-RF) fueron determinados en secuenciador capilar automatizado ABI 3130 (Applied Biosystems, Foster City, CA), con el patrón interno de tamaño BTO 550 (Qiagen, EUA), en un rango de 50 a 550 pares de bases (pb). Los perfiles obtenidos fueron analizados con el software Genemapper V3.7 (Applied Biosystems, Inc., EUA) con una detección de altura del pico de 50 unidades fluorescentes.

Estructura Bacteriana del Suelo

Cálculos de parámetros de diversidad

La biodiversidad genética microbiana fue estimada con tres índices para expresar la estructura bacteriana en virtud de la práctica del cultivo intensivo en la producción de tomate.

- 1) Riqueza (S), representa el número de especies bacterianas que conforman la población del suelo. Fue calculada con el número de T-RF presentes en las muestras, representan las unidades taxonómicas operacionales (UTO) (40). Una UTO es un grupo de organismos filogenéticamente relacionados sin especificar su rango taxonómico (Normand *et al.*, 2015).
- 2) Índice de Shannon (H'), representa el nivel de diversidad de la población bacteriana del suelo. Fue calculada con la formula $H' = -\sum(p_i) (\ln p_i)$, donde p_i es la abundancia relativa de cada especie respecto a la población total, que a su vez fue calculada basándose en el área del pico de cada T-RF dividido por la suma de todas las áreas T-RF de la muestra correspondiente (Babendreier *et al.*, 2007). Los valores de H' van del 0 al 5, los valores generalmente se encuentran entre 1,5 y 3.5, es poco común que excedan el 4.5. Si H' presenta un valor 0 entonces se tiene una especie presente, lo cual se interpreta como baja biodiversidad (Normand *et al.*, 2015).
- 3) Índice de equidad (J'), representa la distribución de la abundancia de las distintas especies en el suelo. Fue calculada con la formula $J' = H' / \ln S$. Los valores J' van del

0 al 1. Al incrementarse este valor se incrementa la diversidad y uno es la máxima diversidad (Boyd y Gill, 2007).

Asimismo, se realizó la asignación filogenética de los T-RF obtenidos en cada muestra, a grupos taxonómicos, mediante la herramienta T-RFLP Phylogenetic Assignment Tool (PAT) (Kent *et al.*, 2003), albergada en el sitio web Microbial Community Analysis (MICA) (Shyu *et al.*, 2007), tomando como base de datos Silva (R106) 16/18S rRNA (Shyu *et al.*, 2007, Nakano *et al.*, 2008).

Análisis estadístico

En los análisis de los datos (electroferogramas) en el desarrollo del experimento se utilizó el software especializado T-REX (Culman *et al.*, 2009) disponible en línea (<http://trex.biohpc.org/>), se calculó la riqueza (S) los datos de la misma fueron transformados logarítmicamente, también el número de UTO bacterianas en cada tratamiento así como el análisis de componentes principales (ACP) para conocer la asociación de grupos bacterianos con respecto al efecto de la aplicación del Metam Sodio en los diferentes tiempos. Los índices de diversidad fueron evaluados con prueba de normalidad de Anderson-Darling ($p \leq 0.05$), los cuales se transformaron logarítmicamente, también se realizó un ANDEVA ($p \leq 0.05$) para comparar medias de tratamientos completamente al azar, también para el obtenido de muestras de nitrógeno en campo y laboratorio con el programa SAS (versión 9.0, EE.UU.).

Funcionalidad Bacteriana del Suelo

Se realizaron dos estudios, uno en campo, en donde fueron medidos los nitratos del suelo, esto durante la evolución del cultivo. Posteriormente, se realizó un ensayo en laboratorio para conocer, si la función nitrificadora realizada por las bacterias del suelo habría sido afectada por la aplicación del MS.

Contenido de nitratos (NO₃⁻) en campo con cultivo

Del ensayo en campo (invernadero), descrito anteriormente en materiales y métodos, de las muestras que fueron tomadas se les analizó contenido de nitratos. Se utilizó el método de Micro-Kjeldahl, para la determinación de nitratos (NO₃⁻) en muestras de suelo tomadas en el invernadero durante la evolución del cultivo (15 días antes de la aplicación del MS, a los 22, 40 y 70 días después de la aplicación del MS). El método

se basa en la extracción del amonio intercambiable por equilibrio de la muestra de suelo con KCl 2N su determinación por destilación mediante arrastre de vapor en presencia de aleación de Devarda (NOM-MX-021-RECNAT 2001).

Análisis estadísticos en ensayos de campo

Los datos de concentración N-NO₃⁻ (ppm), fueron evaluados con prueba de normalidad de Anderson-Darling ($p \leq 0.05$), se realizó un ANDEVA ($p \leq 0.05$) para comparar medias entre tratamientos, se utilizó el programa SAS (versión 9.0, EE.UU.).

Ensayo de nitrificación en condiciones de laboratorio

La prueba consistió en medir el grado de nitrificación del N-NH₄⁺ previamente añadido al suelo de cada tratamiento.

Se procedió a tratar a dos porciones de suelo, a las cuales se les adicionó MS y MS más gallinaza respectivamente, ambos suelos fueron cubiertos con plástico para evitar volatilización. Se utilizó gallinaza orgánica certificada de la marca Vertia®, a una dosis de 4 t·ha⁻¹. La dosis de MS utilizada correspondió a 400 L·ha⁻¹. Los tratamientos realizados fueron a) suelo sin tratamiento (blanco), b) suelo con MS y c) suelo con MS y gallinaza, con tres réplicas por tratamiento. Los muestreos se realizaron a los 5, 10 y 15 días de incubación a 28 °C en cámara oscura, manteniendo la humedad.

Las muestras de suelo de 25 gr, de cada uno de los tratamientos establecidos, se depositaron en frascos de vidrio de 500 ml y con tapón hermético, se les agregó la cantidad de 5 mg de (NH₄)₂SO₄, por Kg de suelo seco, como fuente de energía para los microorganismos nitrificantes (Mellbye *et al.*, 2016). El (NH₄)₂SO₄ utilizado fue grado reactivo de la marca JT Baker. Pasados los días de incubación de los 25 gr de suelo seco colocados en cada frasco, se les añadió 75 ml de solución de K₂SO₄ 0.5 M, en seguida se agito mecánicamente durante 30 minutos y se centrifugó por 20 minutos a 6000 rpm, posteriormente se filtró y se tomó el volumen del sobrenadante. Para la determinación del N-NH₄⁺ por destilación se tomó una alícuota de 20 ml se agregaron aproximadamente 0.3 g de MgO, el amonio destilado fue recolectado en 10 ml de una solución de H₃BO₃, después, para determinar el contenido de N-NO₃⁻ se analizó añadiendo 0,3 g de aleación de Devarda para reducir los nitratos a amonio y realizando una segunda destilación, ambas destilaciones se titularon con H₂SO₄, de acuerdo al método Micro-Kjeldahl (NOM-MX-021-RECNAT 2001).

Análisis estadísticos de ensayos de Laboratorio

Los datos de concentración $N-NH_4^+$ / $N-NO_3^-$ (ppm), fueron evaluados con prueba de normalidad de Anderson-Darling ($p \leq 0.05$), se realizó un ANDEVA ($p \leq 0.05$) para comparar medias entre tratamientos, se utilizó el programa SAS (versión 9.0, EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio del efecto del MS en la Estructura Microbiana

La huella genética de las comunidades bacterianas del suelo, sin la aplicación de MS y con aplicación de MS al considerar todas las etapas del experimento (0, 22, 40 y 70 días), fue determinada mediante el análisis del perfil de fragmentos de ADN terminales del extremo 5' (T-RF) de la región genómica 16S rADN de bacterias, derivados de una restricción con la endonucleasa *NdeI*, comúnmente conocido como análisis T-RFLP (Lane 1991).

El perfil genético puede ser visualizado en términos de intensidad y tamaño de T-RF, que es la longitud de secuencia con unidades pares de bases (50-500 pb), como lo indican los electroferogramas para cada uno de los dos tratamientos (Figura 1). Cada T-RF proviene de una secuencia particular de 16S rADN, por lo que cada T-RF es asumido como una Unidad Taxonómica Operacional (UTO) (Typano *et al.*, 2012).

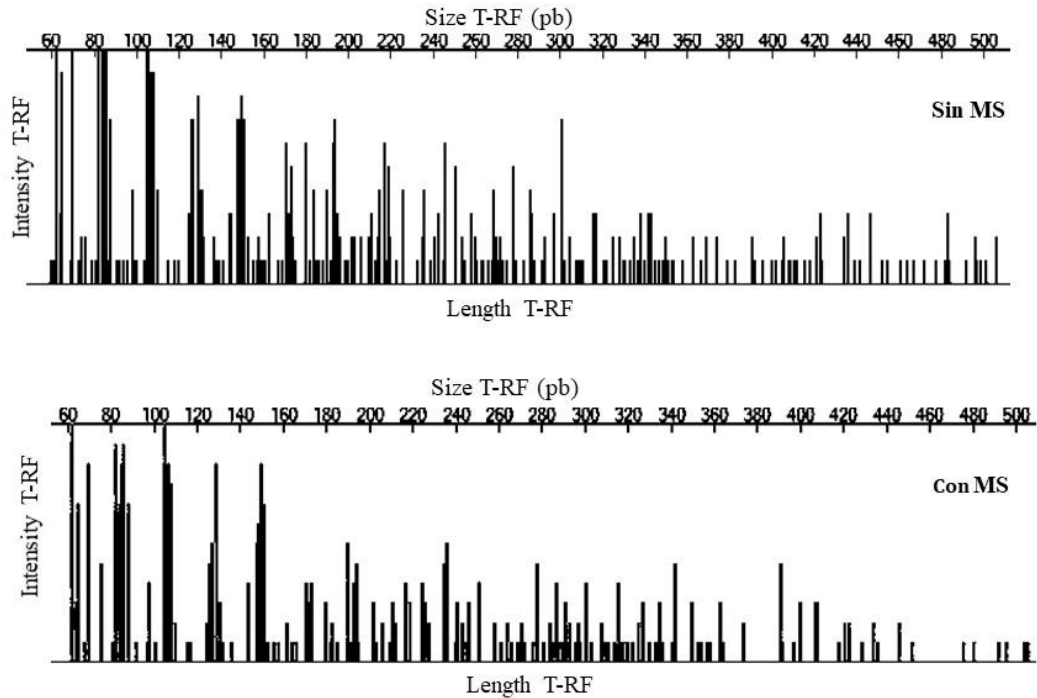


Figura 1.1. Perfil genético bacteriano obtenido por la técnica molecular T-RF (tamaño e intensidad) de suelo sin tratamiento con MS y suelo tratado con MS, al considerar todas las etapas del experimento (0, 22, 40 y 70 días después del trasplante). MS: N-metil ditiocarbamato de sodio.

Riqueza (S)

Los resultados de riqueza se muestran en la tabla 2, donde se observa que el MS no cambió esta propiedad de manera estadística con respecto a la no aplicación del MS en cada una de las etapas fenológicas ($p \leq 0.05$). La riqueza (S) de UTO inicial (antes de la aplicación del MS) fue de 3.4. En el día 22 se observaron valores de 3.7 y 4.1 UTO sin MS y con MS, respectivamente. En el día 40, los valores observados fueron 2.6 y 2.3 UTO, sin MS y con MS respectivamente; en el día 70, los valores encontrados fueron de 3.7 y 3.2 UTO, para sin MS y con MS, respectivamente, mostrándose en la etapa de floración una marcada disminución en la riqueza.

Muestreo	Riqueza		Shannon (H')		Shannon evenness (J')	
	Sin MS media ± DS	Con MS media ± DS	Sin MS media ± DS	Con MS media ± DS	Sin MS media ± DS	Con MS media ± DS
0 Días	3.4 ± 0.42	-	2.92 ± 0.067	-	0.919 ± 0.047	-
22 Días (transplante)	3.7 ± 0.30a	4.1 ± 0.16 a	3.7 ± 0.329b	3.74 ± 0.08a	0.887 ± 0.052b	0.911 ± 0.041a
40 Días (floración)	2.6 ± 0.20a	2.3 ± 0.23a	2.97 ± 0.071a	2.52 ± 0.212b	0.904 ± 0.007b	0.982 ± 0.011a
70 Días (fructificación)	3.7 ± 0.41a	3.2 ± 0.44a	3.46 ± 0.079a	3.82 ± 0.357b	0.890 ± 0.013a	0.851 ± 0.020b

NO

TA: Letras diferentes en filas (etapas fenológicas) denotan diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Letras iguales denotan diferencias no significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Cuadro 1.2. Índices de biodiversidad: riqueza (S), Shannon (H') y Shannon evenness (J') (media ± DE) para los tratamientos sin MS y con MS en cada etapa fenológica del tomate. MS: N-metil ditiocarbamato de sodio.

La riqueza bacteriana del suelo (número de especies diferentes), cultivado con tomate en condiciones intensivas, fue capaz de sobreponerse al disturbio inicial que representó la aplicación del MS. Este fenómeno muestra una elevada resiliencia del suelo, esto es, la capacidad de una comunidad de tratar de volver a su estado inicial después de una perturbación (Bathes *et al.*, 2015). El fenómeno descrito ha sido reportado por otros autores en suelos sometidos a diferentes tipos de disturbios. Marschner y Rumberger (2004) describen un efecto similar en la recuperación de la riqueza de bacterias tras haber esterilizado un suelo agrícola en autoclave a 120°C por 20 minutos con intervalos de 48 horas y posteriormente mezclar con suelo sin esterilizar. En otro estudio en un suelo donde se cultivó por más diez años tomate en sistema convencional y desinfección de suelo con bromuro de metilo y cloropicrina, demostraron que después de tres años de haber realizado un cambio en la gestión del suelo con cinco sistemas diferentes (incluyendo un manejo orgánico), no encontraron diferencias en la riqueza bacteriana (Wu *et al.*, 2008).

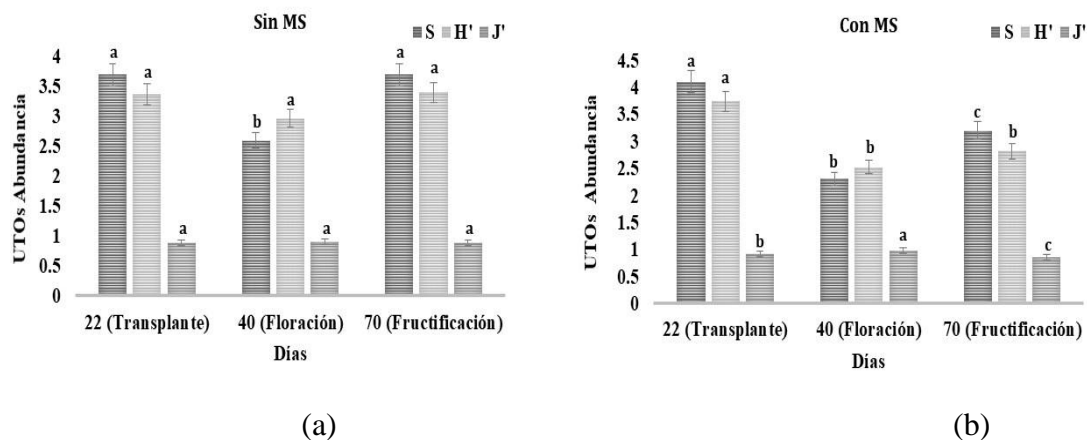
Diversas causas pudieron contribuir a mantener la riqueza bacteriana similar en el suelo agrícola a través del tiempo tras la aplicación de MS: a) La fertilización; los elevados niveles de nutrientes aplicados en el cultivo de tomate en el sistema intensivo (1-6 kg N·ha⁻¹·día⁻¹, Cuadro 1), tales nutrientes pudieron ser aprovechados por las comunidades bacterianas (17, 47); b) La función de las raíces (Habig *et al.*, 2015), que

libera compuestos químicos en forma de exudados como son azúcares, aminoácidos, flavonoides, proteínas etc., a través de las diferentes etapas fenológicas del cultivo de tomate (Chaparro *et al.*, 2012); c) La descomposición acelerada del MS, incluso después de una sola fumigación fomenta un aumento en bacterias degradantes en los suelos (Gamliel y Tirky, 2010); d) La aplicación de una dosis baja ($400 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$), según la ficha técnica del producto, se puede aplicar hasta 1200 L ha^{-1} (Buckman Lab. SA de CV, EUA).

La variación de la riqueza durante la evolución del cultivo de tomate, indica la existencia de diferencias en cada una de las etapas del cultivo y las cantidades de recursos nutritivos, ya que cuando la planta crece, cambian los exudados de la raíz de la planta y también lo hacen los microorganismos del suelo (Chaparro *et al.*, 2012).

Diversidad H' y Equidad J'

El Índice de Shannon H' , indica la diversidad de la riqueza encontrada a través de las UTO en el suelo agrícola con cultivo de tomate. En esta variable, los resultados obtenidos muestran un cambio significativo en términos estadísticos debido a la aplicación del MS al suelo en las diferentes etapas vegetativas ($p \leq 0.05$) (Tabla 2). Antes de la aplicación de MS, H' presentó un valor de 2.92. A los 22 días, los valores de H' fueron 3.37 y 3.74, sin MS y con MS respectivamente, ($p \leq 0.05$). A los 40 días, los valores de H' fueron 2.97 y 2.52, sin MS y con MS respectivamente, ($p \leq 0.05$). A los 70 días, los valores de H' fueron 3.46 y 2.82 sin MS y con MS respectivamente, ($p \leq 0.05$). En todas las etapas fenológicas del cultivo las diferencias fueron estadísticamente diferentes con MS.



NOTA: Diferentes letras indican diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Figura 1.2. Comparación entre las etapas fenológicas del cultivo de tomate con los índices de riqueza de biodiversidad (S), diversidad (H') y equidad (J') para tratamientos sin MS (a) y con MS (b). MS: N-metilditiocarbamato de sodio.

En cuanto al índice de equidad J', el cual indica la organización de la comunidad bacteriana, también se encontraron cambios significativos en términos estadísticos debido a la aplicación del MS al suelo en las diferentes etapas vegetativas (al igual que H') ($p \leq 0.05$) (Cuadro 2). Antes de aplicación del fumigante J' presentó valores de 0.919. A los 22 días, los valores de J' fueron 0.887 y 0.911, sin MS y con MS respectivamente, ($p \leq 0.05$). A los 40 días, los valores de J' fueron 0.904 y 0.982, sin MS y con MS respectivamente. A los 70 días, los valores de J' fueron 0.890 y 0.851, sin MS y con MS respectivamente; con diferencia significativa entre los tratamientos ($p \leq 0.05$). (Cuadro 2).

Los resultados descritos, evidencian cambios en la estructura de la comunidad por acción del MS. Al aplicarse fertilizantes químicos y pesticidas al suelo, se modifican contenidos de nutrientes, el carbón orgánico en el suelo, pH, humedad entre otros (Prashar y Sachi, 2016). Lo anterior pudiera explicar los resultados obtenidos donde se muestran cambios significativos en la diversidad y equidad de las UTO. En otros dos estudios también se tuvo cambios en la diversidad y equidad después de la fumigación (Marscher y Rumberger, 2004; Wu *et al.*, 2008). El aumento de la diversidad conlleva aumento en la actividad microbiana en los suelos restaurando el equilibrio en los ecosistemas aumentando la producción sostenible de los cultivos (Habig *et al.*, 2015) y

la capacidad de recuperación hacia el estrés y disturbios (Trosvik y Ovreas, 2002). El comportamiento bacteriano, en los suelos agrícolas muestran una tendencia de la capacidad de recuperación ante la perturbación del MS (Mocali *et al.*, 2015). La diversidad genética contribuye en las funciones de los ecosistemas ejerciendo efectos sobre la productividad primaria, estructura y resistencia de la comunidad, así como la energía y modulación de flujos de nutrientes (Latta *et al.*, 2011), estas actividades microbianas tienen tasas de crecimiento exponencial rápidas en su población, así como flexibilidad genética a nivel microcosmos y sus impactos son macroscópicos (Konopka, 2009).

Estudios futuros deberán demostrar si los cambios en la diversidad encontrados en este trabajo (en H' fluctuaron entre 10 y 18 %; en J' fueron de 3 y 8 %), representan una afectación a la sustentabilidad del suelo cultivado en sistemas intensivos (invernaderos), estos es, que sus funciones básicas se vean anuladas o reducidas permanentemente, (estabilidad de agregados, mineralización, transformación de la materia orgánica, participación en los ciclos de los elementos, regular crecimiento de las plantas, etc.), o solo representan cambios de arreglo estructural temporales. Los suelos arables son un bien limitado, deben ser protegidos de daños y destrucción para preservar su fertilidad esto es, su capacidad para producir cualquier tipo de rendimiento o productividad (Blume *et al.*, 2015).

Abundancia Relativa en Unidades Taxonómicas Operacionales (UTO)

La interpretación exacta de los efectos de MS en unidades taxonómicas bacterianas se vuelve difícil por el hecho de que no todas las UTO pueden ser identificadas. Se utiliza una de las bases de datos de las más completas MiCA3, que ha sido utilizada en diversos estudios por Typaino *et al.*, (2012) y Zhang *et al.*, (2013). La interpretación por asignación en grupos taxonómicos, de acuerdo a Wei *et al.*, (2016) se enfrenta a una gran incertidumbre, aunque no afecta a la conclusión sobre la población en general, así como comparaciones de abundancia de UTO individuales. La física, química, y la naturaleza físico-química del suelo, sus microorganismos y depredadores indígenas influyen en la población microbiana, cuantitativa y cualitativamente (Khare y Arora, 2014). La composición y estructura de las poblaciones y comunidades microbianas es un punto de partida importante en los estudios de la biodiversidad mostrando un escenario

del efecto de los fumigantes (Triky-Dotan *et al.*, 2010, Wei *et al.*, 2016). La asignación filogenética de las UTO, que en este caso se realizó mediante coincidencia de las mismas en base de datos MiCA (Shyu *et al.*, 2007). Seis grupos filogenéticos de bacterias se adecuaron a los perfiles de T-RFLP generado en este trabajo. En la Figura 3, se muestra el comportamiento de cada grupo con base en las abundancias relativas de las UTO bacterianas mostrando cambios en las diferentes etapas fenológicas. En el tratamiento sin MS sobresalen: *a-Proteobacteria*, *d-Proteobacteria*, *g-Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Cyanobacteria* y *Terrabacteria*. Para el tratamiento con MS: *Proteobacteria*, *a-Proteobacteria*, *b-Proteobacteria*, *d-Proteobacteria*, *g-Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Cyanobacteria* y *Terrabacteria*. Las *phylas* muestran los cambios en el porcentaje de las abundancias relativas de las unidades taxonómicas operacionales (UTO) a través de las etapas fenológicas del cultivo del tomate evidenciando los cambios en las comunidades bacterianas para ambos tratamientos (sin MS vs con MS), y que fueron coincidentes en el indicador H' (diversidad).

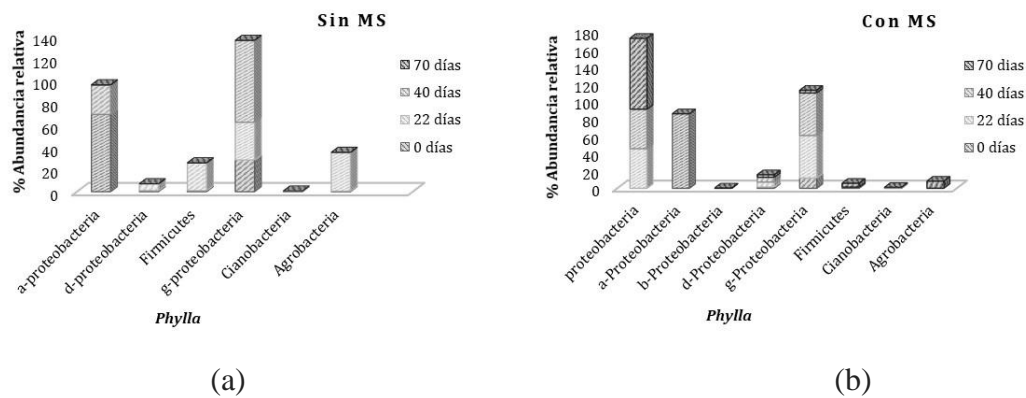


Figura 1.3. *Phylla* (asignación filogenética) versus % Abundancia relativa UTOs, para tratamientos sin MS (a) y con MS (b). MS: N-metil ditiocarbamato de sodio. Dentro de cada fecha de muestreo.

Los cambios en la estructura de la comunidad, durante todo el tiempo de la evolución del cultivo, fueron marcados por las *phylla a-Proteobacteria*, *g-Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Agrobacterium* las cuales se encuentran dentro de las bacterias más abundantes en los suelos agrícolas, son particularmente conocidas por sus potencialidades promotoras del crecimiento de plantas (Chihaoui *et al.*, 2015). De esta

composición *in situ* de la comunidad bacteriana identificada, la más abundante fue la *phyllo proteobacteria* la cual es un grupo metabólicamente diverso, cuatro *subphyllas* (α -, β -, γ - y δ -) se reportan comúnmente en suelo (Aislabi y Deslippe, 2013). Las *proteobacterias* representan más del 40% de todos los géneros procariotas válidamente publicados y muestran una extrema diversidad metabólica (Kerstens *et al.*, 2002).

Los miembros de los *sub-phylla* α , β y γ se consideran copiotróficos: son más frecuentes cuando la disponibilidad de recursos es alta. Las β -*Proteobacterias* probablemente juegan un papel importante en la rotación de carbono: son metabólicamente diversas, usando aminoácidos simples y azúcares y compuestos aromáticos y fenólicos recalcitrantes como sustratos de carbono. Las γ -*proteobacterias* en el suelo incluyen heterotróficos, litotróficos y fototróficos. Entre los heterótrofos las especies de *Pseudomonas* exhiben una notable versatilidad nutricional. La mayoría crece en más de 50 sustratos diferentes, algunos en más de 100. Estos sustratos incluyen azúcares, aminoácidos, ácidos grasos, alcoholes e hidrocarburos. Las δ -*proteobacterias* contienen principalmente bacterias sulfato y reductoras de hierro. (Aislabi y Deslippe, 2013).

Dado los resultados filogenéticos y abundancias relativa, cabe la posibilidad del inicio de una sucesión bacteriana, las cuales suelen ocurrir en sistemas ecológicos disturbados tanto por causas naturales como antropogénicas (Panikov 2010). Sin embargo, esto debe ser corroborado en estudios posteriores con tiempos de evaluación más prolongados.

Análisis de Componentes principales (ACP)

Los datos de las abundancias relativas fueron analizados por componentes principales obtenidos a partir de la técnica molecular de T-RFLP, los cuales no se distribuyen normalmente (Dollhopf *et al.*, 2001). La aplicación de métodos multivariantes alternativos para el análisis de los datos de T-RFLP generados a partir de un estudio factorial múltiple se realizó con T-REX (Culman *et al.*, 2009), donde fue analizada una matriz de datos con efectos principales aditivos y el modelo de interacción multiplicativa (AMMI) como un método adecuado para el análisis T-RFLP, proporcionando información válida y sólida en el análisis de las comunidades microbianas.

La distancia entre las letras representa similitud, si se encuentran juntas tienen una estructura similar, si la distancia es grande representa grandes diferencias para la estructura bacteriana. De acuerdo a la figura 4a, en el tratamiento sin MS, el componente principal (CP1), explicó el 26% de la varianza total de las abundancias relativas, misma que se identifica por la agrupación de datos (E1, E2 y E3) que corresponden los 0 días. El CP2 que corresponde a la etapa de trasplante explica el 47.7% de la varianza total acumulada (E4, E5 y E6). El CP3 presenta el 60.54% de la varianza correspondiente a la etapa de floración (E7, E8 y E9). En tanto el CP4 en la etapa de fructificación explicó el 72.6 % de la varianza total acumulada (E10, E11 y E12). Con un porcentaje de interacción del 56 % entre las UTO y las etapas fenológicas del cultivo de tomate.

En la figura 4b correspondiente al tratamiento con MS, el componente principal (CP1) explicó el 24.45 % de la variación total de las abundancias relativas (UTO), identificada a los 0 días por datos (E1, E2 y E3), de manera acumulada la variación en el componente 2 (CP2) en la etapa de trasplante es del 43.8 % (E4, E5 y E6), para los 40 días la etapa de floración la variación del CP3 fue de 58 % (E7, E8 y E9), el CP4 correspondiente a la etapa de fructificación mostró una variación total acumulada de las abundancias relativas del 70 % (E10, E11 y E12).

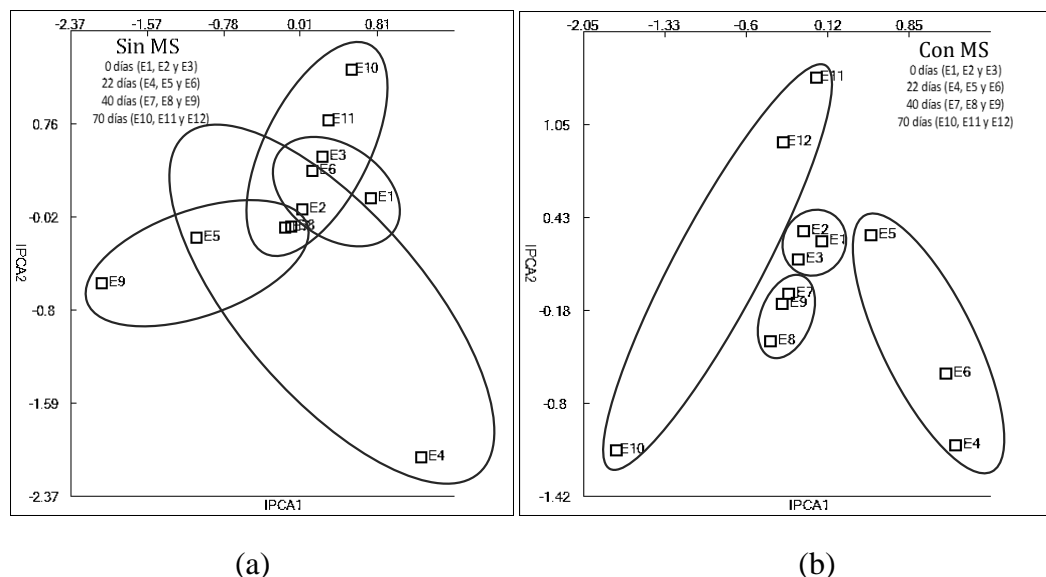


Figura 1.4. Análisis de componentes principales en tratamientos sin MS (a) y con MS (b), discriminados por cada fecha de muestreo. MS: N-metil ditiocarbamato de sodio. E: réplicas en cada fecha de muestreo.

Para ambos tratamientos (sin MS vs con MS) a los 0 días se identifica a las UTO agrupadas observándose el valor más alto de la varianza de las abundancias relativas (E1, E2 y E3), pudiendo ser debido a que no se había tenido perturbación alguna en el suelo con la aplicación del MS. En todas las etapas fenológicas de la evolución del cultivo se tiene una variación acumulada del 72% para el tratamiento sin MS y del 70 % para el tratamiento con MS, evidenciando diferencias en la estructura de las comunidades microbianas, lo que se había descrito en H' y las abundancias relativas de las UTO identificadas (Tabla 2 y Figura 2, respectivamente).

La causa de la dispersión de las UTO en el tratamiento sin MS, pudo ser influenciado por la fertilización química y el desarrollo del cultivo de tomate. Para el tratamiento con MS se muestra mayor dispersión de las UTO mostrando el efecto del MS. La modificación del suelo con fertilizantes y pesticidas influye fuertemente en una gama de funciones y propiedades (pH, humedad, actividad enzimática, etc.) del mismo, las cuales conducen a un cambio en la dinámica poblacional (Prashar y Sachi, 2016).

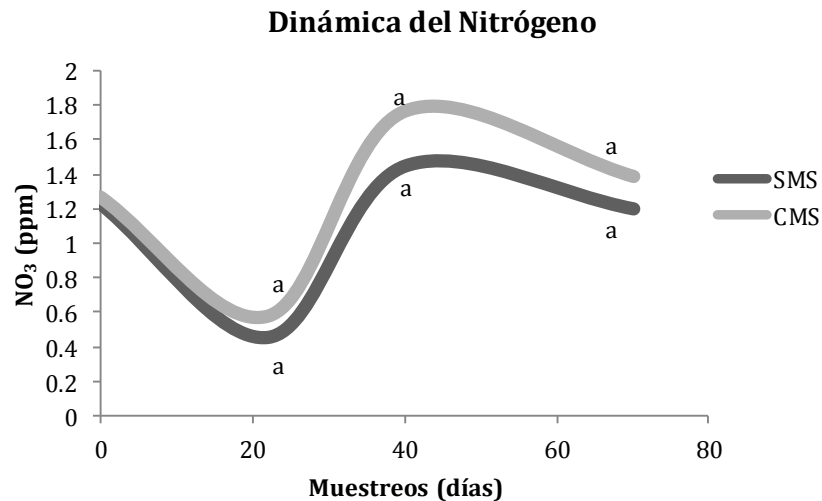
Función Nitrificadora Bacteriana en el Suelo

Estudio de campo: N-NO₃ en el suelo con cultivo

Es ampliamente conocido que las bacterias del suelo participan activamente en el ciclo biogeoquímico de los elementos esenciales de las especies vegetales. Por lo tanto, cualquier actividad que afecte a tales microorganismos, afectará esta función elemental (Di Ciocco *et al.*, 2014). Los resultados del comportamiento de los nitratos en la pasta de saturación del suelo con cultivo intensivo de tomate sin MS y con MS, muestran diferencias no significativas entre tratamientos en las tres etapas fenológicas ($p \leq 0.05$) (Figura 5). Pareciera que el fumigante no afectó la microbiología del suelo responsable de la nitrificación; sin embargo, los efectos pueden estar enmascarados por las altas dosis de N-NO₃⁻ aplicado a través de los fertilizantes nitrogenados altamente solubles (fosfonitrato y nitrato de calcio), los cuales son comunes en sistemas intensivos en invernadero, así también, a la fertilización de los suelos le suele seguir un periodo de inmovilización limitando al N (Eneji *et al.*, 2002).

Por lo anterior, es muy recomendable estudiar la afectación del MS de manera dirigida a bacterias nitrificantes al final del ciclo agrícola, esto es, cuando se retire por

completo la fertilización y se pueda medir el proceso de nitrificación natural del suelo. También es importante estudiar el efecto del MS sobre el proceso de nitrificación, durante el transcurso del cultivo, cuando se emplean fertilizantes que deben ser transformados por las bacterias nitrificantes, como la urea, que es el fertilizante más utilizado en el mundo como fuente de nitrógeno para los cultivos agrícolas.



NOTA: Letras iguales denotan no diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Figura 1.5. Comportamiento de nitratos en las etapas fenológicas del cultivo a los 22, 40 y 70 días entre tratamientos con MS y sin MS. MS: N-metil ditiocarbamato de sodio.

Otros estudios examinaron los efectos de la fumigación de los suelos (MS y bromuro de metilo) y la fuente de fertilizante nitrogenado (nitrato de calcio, nitrato de amonio y sulfato de amonio) sobre el crecimiento del tomate y los $N-NO_3^-$ y $N-NH_4^-$ del suelo en la producción de campo; concluyendo que los fumigantes tuvieron poco o ningún efecto sobre la concentración de $N-NO_3^-$ o $N-NH_4^-$ en el suelo y que la fuente N, para superar la inhibición de la nitrificación, no es necesaria en los sistemas de producción de plantas que involucran la fumigación (Welsh *et al.*, 1998).

Otro trabajo demostró la dinámica del N orgánico disuelto en suelos fumigados por separado con cloropicrina (CP), 1,3-dicloropropeno y metam sodio (MS) durante 7 días y luego incubados a 25 °C durante 84 días. El N orgánico disuelto (DON) a los 14 días

después de la fumigación fue principalmente aminoácidos disueltos (DAA) que luego se mineralizaron rápidamente en amonio. Sin embargo, el pool de DON en tiempos de incubación posteriores era principalmente N orgánico de alto peso molecular que era resistente a la descomposición microbiana. Los tres fumigantes del suelo aumentaron las proporciones de DON en N disuelto total y DAA en DON. El N orgánico disuelto se convirtió en una fuente N móvil mucho más importante en suelos fumigados con CP y MS (Zhang *et al.*, 2011).

Ensayo de Nitrificación en condiciones de laboratorio

En el experimento de incubación en laboratorio de suelo con un contenido inicial de 10 mg Kg⁻¹ N-NH₄⁺, y conocer el curso en días del nitrógeno para lo cual al tratamiento T1 y T2 se les adicionó 5 mg de N-NH₄⁺ en forma de (NH₄)₂SO₄ y al tratamiento T3 se le agregaron 75 mg en forma de gallinaza.

El contenido inicial de N-NH₄⁺ en el suelo de cada tratamiento mostró disminución durante la incubación a los 5 días T1-5.2 mg, T2-7 mg y T3-5.5 mg (figura 6(a)), y siguió decreciendo a los 10 y 15 días de incubación.

En cuanto al N-NO₃⁻ sus cantidades aumentaron con el tiempo a los 5 días el T1-6.3 mg, T2-8.56 mg y T3-16.8 mg, a los 10 días T1-6.3 mg, T2-9,4 mg y T3-18.2 y a los 15 días T1- 5,95 mg, T2-9.45mg y T3-24.1 mg, con estos datos se calculó el porcentaje de nitrificación se cuantificó utilizando la ecuación de Kandeler (1996):

$$\% \text{ Nitrif.} = 100 * (\text{N-NO}_3 \text{ (n)} - \text{N-NO}_3 \text{ (i)}) / [\text{N-NH}_4 \text{ (i)} + (\text{Nmin (n)} - \text{Nmin (i)})]$$

El porcentaje de nitrificación, es la nitrificación porcentual durante un intervalo de tiempo (n – i, días) el porcentaje de N-NH₄⁺ que se transforma. Calculado como la cantidad inicial (Ni) de N-NH₄⁺ en el suelo más la cantidad de N-NH₄⁺ añadida al T1- 15 mg, T2 -15 mg y T3- 86 mg, las cantidades de N se expresaron en: mg N kg⁻¹de suelo seco. El término Nmin (n) y Nmin (i) en el denominador se introduce para corregir la producción de N mineral por el proceso de mineralización de la MOS y de los substratos orgánicos y el consumo de N mineral en los procesos de inmovilización, volatilización y desnitrificación. El % de Nitrificación se calculó a cada uno de los tratamientos a (n): 5, 10 y 15 días de incubación.

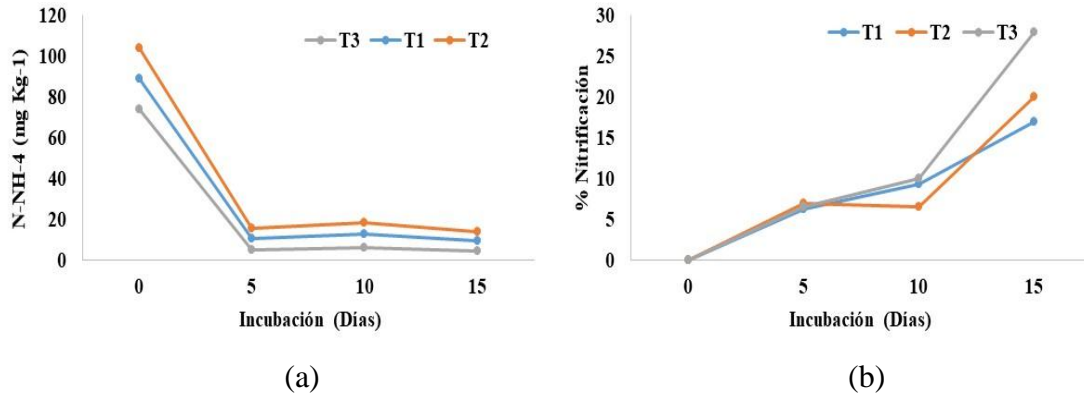


Figura 1.6. Curso en días de las cantidades de N en forma de $N-NH_4^+$, para los tratamientos: T1 (blanco), T2 (MS) y T3 (MS y gallinaza) (a) y el porcentaje de nitrificación (b), a los 5, 10 y 15 días de incubación. MS: N-metil ditiocarbamato de sodio.

Los mayores porcentajes de nitrificación encontrados fueron para el tratamiento que contiene gallinaza (T3-5días- 17%, T3-10 días- 20% y T3-15 días- 28.3%) (Figura 6(b)), ya que las excretas de aves de corral se convierten en urea y $N-NH_4^+$, con humedad, oxígeno y pH adecuados para la actividad microbiana (Dorivar *et al.*, 2008), además tiene impacto como nutriente apoyando el crecimiento de la actividad microbiana de los suelos y la diversidad (Habig *et al.*, 2015). Un estudio similar se realizó por Ruiz *et al.* (2007), mediante incubación de suelos para examinar el nitrógeno disponible ($N-NO_3^-$) del estiércol de pollo, se utilizó una tasa aproximada de $86 \text{ mg de N kg}^{-1}$ total incubada además se incluyeron dos fuentes más, urea y ácido úrico durante 112 días. La mayoría de la acumulación de $N-NO_3^-$ ocurrió dentro de los 7 días de incubación. Las fuentes de estiércol aviar proporcionaron altos niveles del 66% de $N-NO_3^-$ del estiércol aplicado.

Una primera fase de nitrificación a los 5 días, mostró una tendencia similar entre los tres tratamientos, en la segunda fase a los 10 días, T1 y T3 son muy similares, el T2 que contiene MS muestra un decremento en la nitrificación, pudiendo deberse a la afectación del MS hacia los microorganismos nitrificadores. El proceso de nitrificación se realizó desde los 5 hasta los 15 días de incubación, en donde el tratamiento con gallinaza obtuvo el mayor porcentaje de nitrificación en el suelo de estudio. La variación de $N-NO_3^-$ y $N-NH_4^+$ encontradas entre los días de incubación podría atribuirse al efecto por la aplicación del MS.

CONCLUSIONES

La evaluación del sistema agrícola intensivo de tomate en invernadero con la aplicación de MS en suelo permitió identificar que no hubo efecto significativo sobre la riqueza bacteriana (S) a partir de las abundancias relativas de las UTO (Unidades Taxonómicas Operacionales). Sin embargo, la aplicación del MS sí modificó la estructura de la comunidad bacteriana (H' y J') en los tratamientos (con MS y sin MS) para cada una de las etapas fenológicas del cultivo. Dentro de las bacterias identificadas, la *phyla Proteobacteria* presentó más cambios en los porcentajes de las abundancias relativas (UTO) relacionadas a la presencia del MS. Los cambios estructurales en la comunidad bacteriana encontrados no se reflejan en los contenidos de nitrógeno ($N-NO_3^-$ y $N-NH_4^+$) del suelo, el ensayo de nitrificación en condiciones de laboratorio, evidencia que el proceso de nitrificación no se inhibe. El hecho de que la aplicación MS modifique el índice de diversidad (H' y J') de la comunidad bacteriana del suelo en todas las etapas fenológicas del tomate sugiere que el uso de este producto en términos de dosis y frecuencia de aplicación necesita más atención. Además, se necesitan estudios futuros que consideren la fisiología del cultivo y los efectos sobre más funciones básicas del suelo.

AGRADECIMIENTOS

A PROMEP-SEP por el apoyo a través de la red de Agricultura Sustentable del Centro y Norte de México (ASOCEN), proyecto PROMEP/103.5/12/2110, UASLP-CA-209. Nuestro agradecimiento a la Dra. Margarita Rodríguez y Domínguez Kessler, por su ayuda en la asignación filogenética.

LITERATURA CITADA

- Ahamadou, B. and Q. Huang. 2013. Chapter 15: Impact of Agricultural Management Practices on Soil Quality. In: Sparks (Eds.). Progress in Soil Science, pp 429-480.
- Aislabi, J.; J. R. Deslippe. 2013. Soil microbes and their contribution to soil services. In: Dymond JR. (Eds.). Ecosystem services in New Zeland-conditions and trends. Manaaki Whenua Press, Lincon, New Zeland, pp 143-161.

- AMPHAC (Asociación mexicana de Horticultura Protegida). Agricultura protegida en México. 2016. Disponible en: www.amhpac.org/es/index.php/homepage/agricultura-protegida-en-mexico. Acceso: junio 2016.
- Babendreier, D., D. Joller, J. Romeis, F. Bigler and F. Widmer. 2007. Bacterial community structures in honeybee intestines and their response to two insecticidal proteins. *FEMS Microbiology Ecology*. 59, pp 600–610.
- Barthes, A., L. Ten-Hage, A. Lamy and R. Jean-Luc. 2015. Resilience of Aggregated Microbial Communities Subjected to Drought-Small- Scale Studies. *Microbiology Ecology*. 70, pp 9-20.
- Binh, N.T. and K. Shima. 2018. Nitrogen Mineralization in Soil Amended with Compost and Urea as Affected by Plant Residues Supplements with Controlled C/N Ratios. 2018. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*. 5:1. Doi: 10.18178/joaat.5.1.8-13.
- Blume, Hans-Peter, Brümmer, G. W.; Fleige, H.; Hom, R.; Kandeler, E.; Kögel-Knabner, I.; Kretschmar, R.; Stahr, K.; Wilke, Berndt-Michael. 2015. In: Springer (Eds.). *Soil Science: Soil-Plant Relations*, pp 409-484.
- Boyd S. E.; Cummings, D. E.; and Gill, G. 2007. Mineralogy Influences Structure and Diversity of Bacterial Communities Associated with Geological Substrata in a Pristine Aquifer. *Microbial Ecology*. 54, pp 170-182.
- Castellanos, Z. J. 2008. Manual de producción de Tomate de Invernadero. Rev. INTAGRI (Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura) México, pp 31.
- Culman, S.W., R. Bukowski, H. G. Gauch, H. Cadillo-Quiroz and D. H. Buckley. 2009. Software open access T-REX: Software for the processing and analysis of T-RFLP data. *BMC Bioinformatics*. 10, p 171.
- Chaparro, J.; M. Sheflin., Amy M. Manter, D. K. Vivanco. 2012. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biology and Fertility of Soils*. 48:5, pp 489-499.
- Chihaoui, Saif-Allah., T. Darine, J. Ahmed, M. Haythem and M. Ridha. 2015. Inoculation of *Phaseolus vulgaris* with the nodule-endophyte *Agrobacterium* sp.

- 10C2 affects richness and structure of rhizosphere bacterial communities and enhances nodulation and growth. *Archives of Microbiology*. 197:6, pp 805-813.
- Dangi, R., G. Sadikshya, S. James, R. Tirado-Corbalá and H. Ajwa. 2015. Soil Microbial Community Structure and Target Organisms under Different Fumigation Treatments. *Applied and Environmental Soil Science*. ID 673264. 8.
- Di Ciocco, C.A., R. V. Sandler, L. B. Falco, C. E. Coviella. 2014. Actividad microbiológica de un suelo sometido a distintos usos y su relación con variables físico químicas. *Rev. FCA UnCUYO*, 46 :1, pp 73-85.
- Dollhopf, S. L., S. A. Hashsham, J. Tiedje. 2001. The interpretation of 16S rDNA T-RFLP data: mapping self-organization and principal component analysis to describe community dynamics and convergence. *Ecology Microbial*, 42, pp 495-505.
- Dorivar, A., R. Díaz, J. Sayer. A. Mallarino. 2008. Poultry manure supply of potentially available nitrogen with soil incubation. *Agronomy Journal*, 100:5, PP 1310-1316.
- Eneji A.E., T. Honna. S. Yamamoto. T. Saito. T. Masuda. 2002. Nitrogen transformation in four Japanese soils following manure urea amendment. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 33:1, pp 53-66.
- Feng, Y., A. C. Motta, D. W. Reeves, C. H. Burmester, E. Van Santen and J. A. Osborne. 2003. Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton system. *Soil Biology & Biochemistry*, 35, pp 1693-1703.
- Fernandez-Luqueño, Fabián., R. Mendoza and L. Dendooven. 2016. Do Application Rates of Wasterwater Sewage Sludge Affect the Removal of PAHs from Alkaline Saline Soil?. *Pol. J. Environ. Stud.* 25:6, pp 2367-2372. DOI: 10.15244/pjoes/63852.
- Gamliel, A. and S. Triky-Dotan. 2010. Acelerated Degradation of Soil Fumigants: Occurrence and Agricultural Consequences. In: U. Gisi et al. (Eds.). *Plant Pathology*. Springer Science Media, pp 311-326.
- Ge, Y., J. B. Zhang. L. M. Zhang. M. Yang and He, J.Z. 2008. Long-term Fertilization regimes affect bacterial community structure and diversity of an Agricultural Soil in Northen China. *J. Soil Sed.* 8, pp 43-50.

- Habig, J.; A. I. Hassen and A. Swart. 2015. Application of Microbiology in conservation Agriculture. Chapter 20. Conservation Agriculture. In: M. Faroog, K. H. M. Siddique (Eds.). Springer International Publishing. Switzerland, pp 525-554.
- INEGI (instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2016. Clima información por entidad. Disponible en: www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/slp/territorio/clima.aspx?tema=me&e=2
- Kandeler, E., 1996. Nitrification during long-term incubation. In: F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler, R. Margesin (Eds.). *Methods in Soil Biology*. Springer. Germany, pp. 149-151.
- Kent, A. D.; Smith, D. J.; Bensin, B. J.; Triplett, E. W. 2003. Web-based phylogenetic assignment tool for analysis of terminal restriction fragment length polymorphism profiles of microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. 69:11, 6768-6776.
- Kerstens, Kerel., P. De Vos. M. Gillis, J. Swing. P. Vandamme, E. Strackebrandt. 2002. ProKaryotes. Introduction to the Proteobacteria. Abstrac. In: Springer (ed). Springer Media.
- Keshri, J.; M. Avinash, J. Bhavanath. 2013. Microbial population index and community structure in saline-alkaline soil using gene targeted metagenomics. *Microbiological Research*, 168, pp 165-173.
- Khare, E., N. K. Arora. 2014. Effects of Soil Environment on Field Efficacy of Microbial Inoculants. *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*. In: Springer (Eds). Springer. pp 353-381.
- Konopka, A. 2009. Ecology, Microbial. In: Schaechter M (ed) *Encyclopedia of microbiology*. 3rd ed. Elsevier, London, Oxford.
- Lane D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt CE, Goodfellow M (eds) *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley and Sons, Chichester, UK, pp 115–175.
- Laincon. 2010. Informe Técnico de Laisol desinfectante de suelos. Disponible en: www.lainco.es/files/pdf/9132%20LAISOL.pdf. Acceso: enero 2016.

- Latta, IV., C. Leigh C., Baker Michelle, Crowl, Todd, Parnell, J. Jacob., Weimer, Bart, DeWald, Daryll B., Pfrender, Michel E. 2011. Species and genotype diversity community and ecosystem proprieties in experimental microcosms. *Evolutionary Ecology*. 25:5, pp 1107-1125.
- Mellbye, B. L., Giguere, A., Chaplen, F., Bottomley, P. J., & Sayavedra-Soto, L. A. (2016). Steady-State Growth under Inorganic Carbon Limitation Conditions Increases Energy Consumption for Maintenance and Enhances Nitrous Oxide Production in *Nitrosomonas europaea*. *Applied and environmental microbiology*, 82(11), 3310-3318. doi:10.1128/AEM.00294-16
- Marschner, P.; Rumberger A. (2004). Rapid changes in the structure of bacterial communities of the rhizosphere during the re-colonization of sterilized soil. *Biology and Fertility of Soil*. 40, pp 1-6.
- Mocali, S.; Landi, S. Curto, G. Dallavalle, E. Infantino, A. Colzi, C.; d'Errico, G. Roversi, P.F.; D'Avino, L.; and Lazzeri, L. 2015. Resilience of soil microbial and nematode communities after biofumigant treatment with defatted seed meals. *Industrial Crop and Products*. 75, pp 79-90, part A.
- Nakano; Y.; Takeshita, T.; Kamio, N.; Shiota, S.; Shibata, Y.; M. Yasui, M.; Yamashita, Y. 2008. Development and application of a T-RFLP data analysis method using correlation coefficient matrices. *J Microbiol Methods*. 75, pp 501–505.
- Normand, P.; Duran, R.; Le Roux, X.; Morris, C.; and Poggiale, Jean-Christophe. 2015. Biodiversity and Microbial Ecosystems Functioning. Chapter 8: Environmental Microbiology: Fundamentals and Application: Microbial Ecology. In: J-C. Bertrand et al. (Eds.). Springer Science, pp 261-291.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2001. 2001. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Distrito Federal, México. *Gaceta Ecológica*. 61, pp 77-85.
- Panikov, N.S. 2010. Microbial Ecology. Handbook of Environmental Engineering vol.10: Environmental Biotechnology. In: L.K. Wang, et al., (Eds.). Springer Science Media. pp 121-191.

- Prakash, J., D.K. Jaiswal, R. Sagar. 2014. Pesticide relevance and their microbial degradation: a state-of-art. *Environ Sci Biotechnol*. In: E. Lichtfouse (Ed.). Springer International Publishing. Switzerland, pp 429-466.
- Prashar, P., and S. Shachi. 2016. Impact of Fertilizer and Pesticides on Soil Microflora in Agriculture. *Sustainable Agriculture Reviews*. 19, pp 331-361.
- Ruiz, Dorivar A., J. E. Sawyer and A. P. Mallarino. 2007. Poultry Manure Supply of Potentially Available Nitrogen with Soil Incubation. *Agronomy Journal Abstract-MANURE* 100:5, pp 1310-1317.
- Sande, D., J. Mullen, M. Wetzstein, and J. Houston. 2011. Environmental Impacts from Pesticide Use: A Case Study of Soil Fumigation in Florida Tomato Production. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 8, pp 4649-4661.
- Shyu, C.; T. Soule. S. J. Doblado. S. A. Foster, L. J. Forney. 2007. MICA: A web based tool for the analysis of microbial communities based of terminal-restrictions fragment length polymorphisms of 16 S and 18S rRNA genes. *J Microbial Ecology*. 53, pp 562-570.
- SNITT (Agencia Nacional de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología Agrícola) 2016- 2022. 2016. SAGARPA-SNITT, Primera Edición, pp 192.
- Statistical Analysis System (SAS®) versión 9.0, EE.UU.
- Tipayno, S., K. Chang-Gi, and S. Tongmin. 2012. T-RFLP analysis of structural changes in soil bacterial communities in response to metal and metalloid contamination and initial phytoremediation. *Applied Soil Ecology*. 61, pp 137-146.
- Tiquia, S.M. 2005. Microbial Community Dynamics in Manure composts based on 16S and 18S rDNA T-RFLP. *Environmental Technology*. 26, pp 1101-1113.
- Torsvik, V. and L. Ovreas. 2002. Microbial Diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Ecology and Industrial Microbiology*. 5, pp 240-245.
- Triki-Dotan, A. S., M. Steiner, B. Peretz-Alon, Y. Katan and J. A. Gamliel. 2009. Accelerated Degradation of Metam-Sodium in Soil and Consequences for Root-Disease Management. *Phytopathology*. 99:4, pp 362-368.
- Triki-Dotan, A. S., M. Ofek, M. Austerweil, B. Steiner, D. Minz, J. Katan, A. Gamliel. 2010. Microbial Aspects of accelerated Degradation of metam sodium in soil. *Phytopathology*, 100:4, pp 367-375.

- Wang, Q., Y. Ma and H. Yang. 2014. Effect of biofumigation and chemical fumigation on soil microbial community structure and control of pepper *Phytophthora* blight. *World Microbiol Biotechnol* 30, pp 507-518.
- Wei, F., T. Passey and X. Xu. 2016. Amplicon-based metabarcoding Reveals temporal response of soil microbial community to fumigation-derived products. *Applied Soil Ecology*. 103, pp 83-92.
- Welsh, C. E., E.A. Guertal. C. W. Wood. 1998. Effects of soil fumigation and N source on soil inorganic N and tomato growth. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 52:1, pp 37-44.
- Wu, T., D. O. Chellemi, J. H. Graham, K. J. Martin, E. N. Rosskopf. 2008. Comparison of soil Bacterial Communities Under Diverse Agricultural Land Management and Crop Production Practices. *Microbial Ecology*, 55:2, pp 293-210.
- Zhang, Ch., G. Li. Q. Lin. A. Cao, X. Zhao. 2011. The dynamics of dissolved organic N in the fumigated soil. *Biology and Fertility of Soil*, 47:7, pp 833-837.
- Zhang, T., X. Jianhua, Z. Jun and L. Kai. 2013. Diversity of prokaryotes associated with soils around coal-fire gas vents in MaNasi country of Xinjiang, China. *Antoine van Leeuwenhoek*, 103:1, pp 23-36.

RELACIÓN DE PRÁCTICAS AGRONÓMICAS CON CONTENIDO Y PERSISTENCIA DEL METIL ISOTIOCIANATO EN SUELO Y EFECTOS EN PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN POST-TRASPLANTE

RELATION OF AGRONOMIC PRACTICES WITH CONTENT AND PERSISTENCE OF METHYL ISOTIOCIANATE IN SOIL AND EFFECTS ON TOMATO PLANTS (*Solanum lycopersicum* L.) IN POST-TRANSPLANTATION

RESUMEN

Las prácticas agronómicas pueden modificar la química del suelo agrícola, lo cual podrá influenciar la presencia y biodisponibilidad de las sustancias químicas del suelo. El metam sodio (MS) (i.a. metil isotiocianato), es un fumigante que poco se ha estudiado en agroecosistemas hortícolas intensivos. Se evaluaron las relaciones de las prácticas agrícolas, como el uso de gallinaza y acolchado, en la persistencia y contenido de MITC en el suelo (propiedades fisicoquímicas) y los efectos en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) recién trasplantadas en una malla sombra. El diseño experimental fue un bloques al azar con cinco tratamientos: T1=sin metam sodio; T2=metam sodio-sin gallinaza-sin acolchado; T3=metam sodio-sin gallinaza-con acolchado; T4=metam sodio-con gallinaza-sin acolchado; T5=metam sodio-con gallinaza-con acolchado. Los muestreos del MITC en el suelo fueron a los 0 días (antes de la aplicación de MS), 10, 45 y 85 días después de la aplicación. Los parámetros fisiológicos: clorofila, prolina, fluorescencia de clorofila, biomasa fresca y seca y área foliar fueron muestreados a los 5, 17, 24 y 31 días después del trasplante. La cuantificación del MITC se realizó por cromatografía de gases cuadrupolo. El MITC persistió en el suelo a los 10 días después de su aplicación, donde el mayor valor fue de 6.5 ppm para el tratamiento T5 y la menor concentración resultó en T2 (0.81 ppm). A los 45 días después de la aplicación se detectó MITC, donde la mayor y menor concentración fue de los tratamientos T5 (2 ppm) y T4 (0.4 ppm). A los 85 días no se detectó MITC en el suelo. El MITC se correlacionó con el % MO del suelo ($r^2=0.915$) y MITC-P ($r^2=0.954$). Contenido de clorofila, eficiencia del fotosistema no mostraron diferencias significativas entre tratamientos y fechas de muestreo. La prolina, biomasa fresca y secay el área foliar sí

mostraron diferencias significativas a los 31 días, obteniéndose los valores más altos en el tratamiento T5, evidenciando el efecto de las prácticas agrícolas. Como conclusión se tiene que la acción conjunta de la aplicación de gallinaza (previa al transplante) y el acolchado plástico en los surcos, provocaron que el MITC pudiera persistir en el suelo, hasta una vez trasplantada la plántula de tomate en un agroecosistema intensivo (malla sombra) hasta 45 días después. Las propiedades fisicoquímicas del suelo que se relacionaron a los contenidos del MITC, debido a la aplicación de la gallinaza y acolchado, fueron la materia orgánica y el fósforo aprovechable, que pudieron tener efecto de retención del MITC. Sin embargo, los contenidos de MITC no fueron lo suficientemente altos o pudieron ser retenidos ya que poco se afectó la fisiología y no hubo efectos negativos en el crecimiento de las plántulas, o bien, que los beneficios de las prácticas agronómicas fueron mayores a el daño fisiológico observado.

Palabras clave: prácticas agrícolas, indicadores fisicoquímicos, suelo.

ABSTRACT

Agronomic practices can modify agricultural soil chemistry, which may influence the presence and bioavailability of soil chemicals. Metam sodium (MS) (i.a. methyl isothiocyanate), is a fumigant that has been little studied in intensive horticultural agroecosystems. The relationships of agricultural practices, such as the use of poultry manure and plastic mulching, were evaluated, in the persistence and content of MITC in the soil (physicochemical properties) and the effects in tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) newly transplanted in a shaded mesh. The experimental design was a randomized block with five treatments: T1=without sodium metam; T2=sodium metam-without poultry manure-without mulching; T3= sodium metam-without poultry manure-with mulching; T4= sodium metam –with poultry manure-without mulching; T5=sodium metam-with poultry manure-with mulching. The MITC samplings in the soil were at 0 days (before the application of MS), 10, 45 and 85 days after the application. The physiological parameters: chlorophyll, proline, chlorophyll fluorescence, fresh and dry biomass and foliar area were sampled at 5, 17, 24 and 31 days after transplantation. The quantification of the MITC was performed by quadrupole gas chromatography. The MITC persisted in the soil at 10 days after its application, where the highest value was

6.5 ppm for the T5 treatment and the lowest concentration resulted in T2 (0.81 ppm). At 45 days after the application, MITC was detected, where the highest and lowest concentration was of the treatments T5 (2 ppm) and T4 (0.4 ppm). At 85 days no MITC was detected in the soil. The MITC was correlated with the soil % MO ($r^2 = 0.915$) and MITC-P ($r^2 = 0.954$). Chlorophyll content, photosystem efficiency did not show significant differences between treatments and sampling dates. The proline, fresh and dry biomass, and the foliar area did show significant differences at 31 days, obtaining the highest values in the T5 treatment, evidencing the effect of agricultural practices. The conclusion is that the joint action of the application of poultry manure (prior to transplanting) and plastic mulching in the furrows, caused the MITC to persist in the soil, until transplanted the tomato seedling in an intensive agroecosystem (shaded mesh) up to 45 days after. The physicochemical properties of the soil that were related to the contents of the MITC, due to the application of poultry manure and mulch, organic matter and usable phosphorus were, that could have an MITC retention effect. However, the contents of MITC were not high enough or could be retained since little physiology was affected and there were no negative effects on the growth of the seedlings, or that the benefits of the agronomic practices were greater than the observed physiological damage.

Key words: agricultural practices, physicochemical indicators, soil.

INTRODUCCIÓN

La agricultura y producción de alimentos, biocombustibles, madera, textiles y papel, requiere que la calidad del suelo se mantenga (Garrigues *et al.*, 2013). Los sistemas de producción resilientes y ambientalmente sostenibles cada vez son más necesarios (Ponisio *et al.*, 2014). La sostenibilidad de suelos agrícolas se evalúa con indicadores fisicoquímicos, relacionados con la calidad del suelo, éstos deberían ser conocidos y útiles para los administradores de la tierra (Doran y Zeiss 2000; Estrada *et al.*, 2017). Los indicadores seleccionados, son herramientas para la evaluación de las prácticas de gestión actuales y su comparación con las futuras (Wienhold, 2004). En estas prácticas, los pesticidas también se utilizan, por lo que, su evaluación es esencial en cantidad, frecuencia e impacto ambiental que se han utilizado como indicadores (Peshin, 2014), por el debate sobre sus beneficios y consecuencias en la salud y el ambiente (Bourguet, 2016). El estudio de las prácticas agronómicas e indicadores de calidad del suelo puede proporcionar información sobre la sostenibilidad ambiental. El fumigante MS es utilizado en los sistemas agrícolas intensivos, su uso se ha incrementado en razón al aumento de la superficie de sistemas de agricultura protegida en México con más de 23,000 ha (SNITT, 2016), en los monocultivos como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

El MS, perteneciente al grupo químico de los tiocarbamatos, se transforma a metil isotiocianato (MITC) cuando se aplica en suelos húmedos distribuyéndose como gas en el suelo con efecto biocida (Triky-Dotan *et al.*, 2009), ayuda en la prevención de enfermedades en el suelo provocadas por *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Verticillium* spp. y *Sclerotinia* spp., entre otras especies (Laincon, 2010). Para la realización de este estudio, se parte de que al adicionar gallinaza antes del trasplante (materia orgánica) y el acolchar con plástico los surcos (prácticas comunes en los sistemas de producción agrícola intensivos) se modifican las condiciones ambientales y la química del suelo, lo que podrían afectar a la persistencia y contenido del MITC en el suelo y éste a su vez a la planta. Las fuentes orgánicas benefician en calidad, vitaminas, enzimas y deposición de materia orgánica en el suelo, así como suministro de micronutrientes al medio ambiente del suelo (Panda *et al.*, 2015). El material orgánico, como la gallinaza, se identifica como un fertilizante orgánico

adecuado, varios experimentos han demostrado que la gallinaza es lo mejor para el cultivo de tomate (Adekiya y Agbede, 2017).

El uso de gallinaza se puede utilizar eficazmente para fines agrícolas aumentando el contenido de P, Zn, Cu y Mn y las concentraciones de los cationes intercambiables (K, Ca y Mg) en el suelo, disponibles para las plantas (Inal *et al.*, 2015). Por su parte, los acolchados plásticos mejoran la temperatura del suelo y las condiciones de humedad que promueven el crecimiento del cultivo, lo que a su vez afecta los presupuestos de agua y energía en el mismo (Liu *et al.*, 2014), crean un microambiente que favorece la actividad microbiana, aumentando la biodiversidad del suelo (Memon *et al.*, 2017). El objetivo del presente estudio fue evaluar las relaciones entre las prácticas agrícolas: abonado con gallinaza y acolchado plástico con la persistencia, contenido de MITC, propiedades fisicoquímicas del suelo y efecto en las plantas de tomate transplantadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

Este estudio se realizó en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México (22° 13' 48'' N y 100° 51' 35'' O, 1834 msnm). El clima de la zona es semiárido, con promedio de lluvias de 450 mm y una temperatura anual media de 21°C (INEGI, 2016). Las características del suelo iniciales fueron: limo 20 %, arena 61 %, arcilla 19 % (franco arenoso), materia orgánica 1.5 % (bajo), potasio intercambiable 1.2 C⁺ mol·kg⁻¹ (alta), fósforo 6 ppm (medio), nitrógeno inorgánico 9.5 ppm, el pH en el extracto de saturación 8.15 (ligeramente alcalino), conductividad eléctrica 0.88 dS·m⁻¹ (efectos salinos despreciables). La metodología de análisis fue de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana de Análisis de Suelo (NOM-MX-RECNAT021-2001).

El estudio se estableció en una malla sombra de 600 m² de área, orientada en dirección norte-sur. Cinco tratamientos se evaluaron en un diseño de bloques al azar (Cuadro 2.1). Cada unidad experimental fue de 2.2 m² (1.1 x 2 m de largo). Cada tratamiento se repitió en tres ocasiones.

Cuadro 2.1. Tratamientos experimentales.

Tratamiento	Prácticas Agrícolas
T1	Sin Metam sodio
T2	Metam sodio - sin gallinaza - sin acolchado
T3	Metam sodio - sin gallinaza - con acolchado
T4	Metam sodio - con gallinaza - sin acolchado
T5	Metam sodio - con gallinaza -con acolchado

La aplicación de gallinaza en el lomo del surco fue equivalente a 4 t ha⁻¹ de la marca Vertia® (Cuadro 2.2), con aplicación preventiva de MS en dosis media de 600 L·ha⁻¹ en el lomo de surco. La fuente del MS fue Vapam al 45%, en estado líquido (Buckman Lab., EE. UU.). La temperatura del suelo en el momento de la aplicación del MS fue de 30 °C a 25 cm de profundidad, con humedad a capacidad de campo. El suelo se cubrió con el acolchado plástico cubierta gris y al revés color negro. Veinte días después de la aplicación de MS, la gallinaza y el acolchado, se hizo el trasplante de las plántulas de tomate de la variedad Pony express (Harris Moran, EE. UU.), de crecimiento determinado, con 4-5 hojas verdaderas. Se realizó fertilización en el cultivo para las fases vegetativa, floración y fructificación del cultivo (Cuadro 2.3), (Castellanos, 2009).

Cuadro 2.2. Análisis físico-químico de la gallinaza.

Análisis Promedio Gallinaza Vertia®	
Nitrógeno Total	2%
Fósforo (P ₂ O ₅)	5%
Potasio (K ₂ O)	3%
Materia Orgánica	30%
Material Inerte	5%
Porcentaje de humedad	14%

Cuadro 2.3. Programa de fertilización implementado en las diferentes etapas del cultivo de tomate.

Elementos	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
	8 a 25 DDT	26 a 45 DDT (kg ha ⁻¹ día ⁻¹)	46 a 70 DDT
N	1	2	6
P ₂ O ₅	1	1.5	1.5
K ₂ O	2	4	10
Ca	1.8	3	3.5
Mg	0.6	1	2

DDT= Dias después del trasplante

La fertirrigación se ajustó a un pH entre 6 y 6.5, con conductividad eléctrica entre 2 y 2.5 dS·m⁻¹. Los riegos fueron aplicados al tener una tensión de humedad de aproximadamente 10 y 14 centibars. Las fluctuaciones de temperatura, en la casa sombra, durante el período de estudio fueron de 21 a 31°C y la humedad relativa de 59 a 70%.

Variables de estudio

Contenido de MITC en suelo

Los muestreos fueron a los 10, 25 y 85 días después de su aplicación. El suelo fue tomado en el lomo del surco en el estrato de 0-25 cm, fueron colocadas en viales y almacenados a -20° C, hasta su análisis. El estándar del MICT fue grado alta pureza al 5% de la marca Santa Cruz, EUA, la solución madre fue preparada con concentraciones cercanas a los 500 µg ml⁻¹ en acetona y fueron almacenados a -20 °C. Los solventes empleados fueron de la marca J. T. Baker grado residuos. La extracción del MITC se realizó mediante extracción sólido-líquido asistida por ultrasonido (Thermo). Se tomaron 5 g de muestra de suelo, se adicionaron 5 g de Na₂SO₄ con 10 ml de acetato de etilo y se colocaron en baño de agua ultrasónico por 30 min, fueron sometidas a centrifugación fría, se filtraron con filtro estéril de 0.20 µm, se colocaron en vial para su análisis. La cuantificación del MITC se realizó por cromatografía de gases cuadrupolo con un equipo 5975 series MSD y 7820A GC System de Agilent Technologies. (Tadeo *et al.*, 2004, Zhang *et al.*, 2005, Peruga *et al.*, 2014).

Determinación de las propiedades fisicoquímicas del suelo

En las propiedades fisicoquímicas del suelo, fue determinado materia orgánica (MO), pH, potasio (K), fósforo (P) y nitrógeno inorgánico (Ni) a los 10, 25 y 85 días después de la aplicación del MS, en acorde a la Norma Oficial Mexicana de Análisis de Suelo (NOM-021, 2001).

Clorofila Total

Se realizó una correlación entre unidades SPAD y la clorofila, la lectura de los valores SPAD, fue para los cuatro muestreos a los 5, 17, 24 y 31 días. El equipo utilizado fue el SPAD-minolta 502. La cuantificación de clorofila se realizó por el método establecido en Standard Operating Procedures 2030 de SERAS-EPA (1994), se utilizó un espectrofotómetro marca Thermo Orion, los datos obtenidos de clorofila se utilizaron para correlacionarlos con las unidades SPAD medidos de las hojas. Se obtuvo la ecuación de regresión lineal y se estimó la cantidad de clorofila a en los diferentes tratamientos.

Prolina

Para cuantificar la prolina en hojas de tomate en base a peso seco, se utilizó el método descrito por Bates *et al.*, (1973) y modificaciones realizadas por Shabnam *et al.*, (2016). Se midió a 508 nm en un espectrofotómetro (Thermo).

Eficiencia del fotosistema II

Se utilizó el analizador de rendimiento de fotosíntesis MINI-PAM-II. Las muestras de hojas de tomate se midieron directamente del cultivo a los 31 días del experimento a las 0, 9, 12 y 17 hrs. Los parámetros calculados fueron: a) F_v/F_m (fluorescencia variable/fluorescencia máxima) y b) Eficiencia del fotosistema II (Y (II)).

Area foliar

Se utilizó un dispositivo fotográfico inmóvil para obtener imágenes de las hojas de cuatro plantas de tomate para cada uno de los tratamientos por triplicado para calcular el

área foliar. Posteriormente, la determinación del área foliar se realizó mediante el software ImageJ para Microsoft (1997) en línea.

Peso de biomasa en fresco y seco de plántula

A los 5 y 31 días después del trasplante, se extrajeron las plantas, se etiquetaron y fueron secadas en una estufa (Rysa) a 65 °C por 24 horas hasta obtener peso constante.

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis factorial y un ANDEVA para comparar medias y un prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) en los tratamientos de bloques completamente al azar. Para conocer la relación de las propiedades fisicoquímicas con los contenidos de MITC del suelo y las aplicaciones de gallinaza y acolchado, se realizaron las pruebas de correlación, regresión y el análisis de componentes principales, se utilizó el software MINITAB.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Relación de las prácticas agrícolas con el contenido y la persistencia de MITC en el suelo

Considerando los resultados entre la práctica agrícola y el contenido de MITC en el suelo se destaca a los 10 días después de la aplicación una mayor concentración de MITC para el tratamiento ms-cg-ca: 6.5 ± 0.04 ppm ($p \leq 0.05$), y el valor menor fue para la práctica agrícola ms-sg-sa: 0.4 ± 0.05 ppm ($p \leq 0.05$) es decir una diferencia de 6.15 % (Figura 2.1a). A los 25 días después de la aplicación de MS y 5 días después del trasplante se encontró la mayor concentración del MITC de (2.0 ± 0.03 ppm) ($p \leq 0.05$) para la práctica agrícola ms-cg-ca y el menor valor fue de (0.81 ± 0.03 ppm) ($p \leq 0.05$) para ms-cg-sa con una diferencia de 40.5 % ($p \leq 0.05$) (Figura 2.1b), se distingue una relación significativa de la aplicación conjunta de la gallinaza y el acolchado. A los 85 días después de la aplicación del MS y 45 días después del trasplante ya no se encontró rastro de MITC en el suelo.

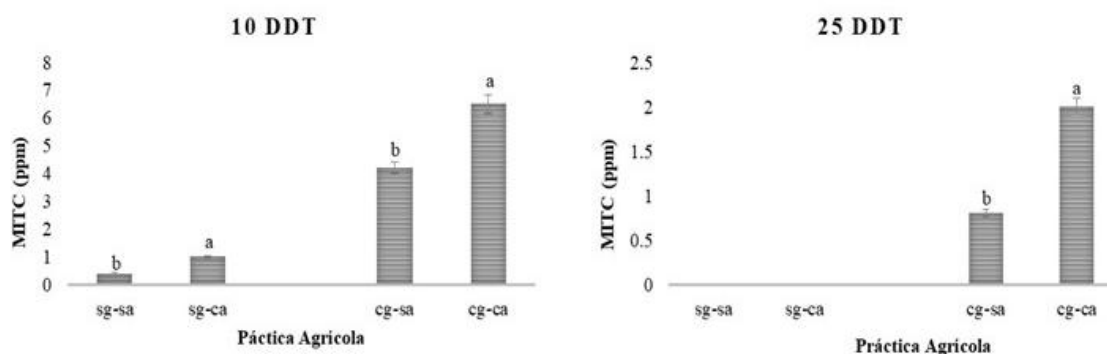


Figura 2.1. Concentración de Metil Isotiocianato en suelo a los 10 y 25 días después de la aplicación, en los cuatro tratamientos.

NOTA: Letras diferentes indican diferencias significativas entre las prácticas agrícolas (tratamientos) con la concentración del metil isotiocianato a ($p \leq 0.05$).

Las diferencias encontradas en cuanto al contenido y persistencia del MITC en el suelo son atribuibles a las prácticas agrícolas: adición de gallinaza y el acolchado.

Los fumigantes comúnmente se cree que son de corta vida en el suelo, pero se han encontrado residuos en los suelos años después de la aplicación (Guo *et al.*, 2003). Por otra parte, los acolchados plásticos, generalmente se usan para minimizar efectos climáticos en los cultivos, (la temperatura, la lluvia y el aire) además los surcos cubiertos de plástico crean un microambiente que favorece la actividad microbiana del suelo, aumenta la biodiversidad del suelo y mejora la sostenibilidad ambiental (Memon *et al.*, 2017). Dungan *et al.*, (2003) evaluaron el efecto combinado de la temperatura y la tasa de aplicación de gallinaza en la degradación de MITC, la cual se aceleró significativamente tanto por el aumento de la temperatura y la tasa de enmienda.

Para minimizar las emisiones atmosféricas de MITC (Fang *et al.*, 2017), determinaron el efecto de la temperatura, humedad y mezclas de fumigantes sobre la permeabilidad a MITC de película de polietileno de baja densidad (LDPE) y película totalmente impermeable (TIF), utilizando cámaras selladas estáticas. Los resultados mostraron que la temperatura tuvo el mayor impacto en el coeficiente de transferencia de masa (MTC) del MITC a través de la película de LDPE; la permeabilidad aumentó 8.8 veces cuando la temperatura se elevó de 5 a 35 ° C. Al tenerse un recubrimiento plástico en el surco

del suelo donde se aplicó el MS, la incorporación de éste tuvo un flujo máximo de emisión (MITC) en menor tiempo, mejorando la eficacia del fumigante (Chellemi *et al.*, 2010, Hwang *et al.*, 2017). Otra evidencia que se presenta en este resultado, son las concentraciones menores para el MITC a los 10 y 25 días después de la aplicación coincidiendo con la práctica agrícola ms-cg-sa, con niveles de 4.2 y 0.81 ppm respectivamente. Esto indicaría dos vertientes con respecto de la interpretación de las prácticas agrícolas y el comportamiento del MITC. La primera estaría deduciendo aquellas prácticas agrícolas que tienen efectos reductores de las concentraciones del MITC en el suelo y la segunda son aquellas prácticas que mantienen altas concentraciones de MITC.

De acuerdo a Duncan y Yates (2003) el MITC se degrada entre un 50 y 80 % mediante degradación microbiológica. Warton *et al.* (2001), aislaron bacterias del suelo fresco que presenta una degradación mejorada, 11 se parecían a *Rhodococcus* spp., 4 se parecían a *Bacillus* spp y 3 no fueron identificados (Alori *et al.*, 2017), coincidiendo con bacterias que solubilizan y mineralizan al fósforo. El MITC fue incubado en tres suelos diferentes de EUA durante 30 días, con dosis de aplicación de 1000-1700 mg kg⁻¹ de suelo, los residuos persistentes extraídos de los tres suelos variaron de 5 a 67 mg kg⁻¹ (Guo *et al.*, 2003). Los diferentes factores que determinan la cantidad residual del MITC en el suelo son: tipo, humedad, temperatura, porosidad y la materia orgánica del mismo (Wambeke, 2010).

Los pesticidas son sustancias orgánicas xenobióticas, que cuando han logrado efectos deseados, los residuos quedan en los ecosistemas, el comportamiento de éstos residuos en el sistema suelo planta se rige por las mismas que las de otros contaminantes xenobióticos orgánicos (Franz *et al.*, 2016). Riffaldi *et al.*, (2000) realizaron un experimento en laboratorio para conocer la degradación del MITC, de acuerdo a sus resultados, la degradación de MS a MITC se realizó en 4 horas, y el MITC se descompuso rápidamente, pero en el suelo que contenía materia orgánica estaba presente después de 15 días. La materia orgánica es la causa más importante de interacción de los plaguicidas en el medio ambiente del suelo (Bollag *et al.*, 1992), retiene nutrientes y contaminantes del suelo (Lehmann y Kleber, 2015). La aplicación de compost modifica la sorción como la degradación de pesticidas en los suelos, dependiendo de la naturaleza

del pesticida y el compost, así como de las cantidades agregadas (Barriuso *et al.*, 1997). El destino de los contaminantes orgánicos en el medio ambiente está influenciado por el tipo y la fuerza de sus interacciones que dependen de la composición química de MO (Bollag *et al.*, 1992, Barriuso *et al.*, 2011). La interacción causa sorción específica del sitio en la superficie (Ahmed *et al.*, 2015). Los ácidos fúlvicos (AF) o húmicos (AH) son los químicos más involucrados en las interacciones de unión, las reacciones o procesos implicados parecen ser los mismos que los responsables de la formación de sustancias húmicas, es decir, para el proceso de humificación, en la unión de plaguicidas (Witwicki *et al.* 2015; Schellekens *et al.* 2017) a la materia orgánica puede ocurrir por: fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, enlaces hidrofóbicos, interacciones electrostáticas: transferencia de carga, intercambio iónico o intercambio de ligandos, enlaces covalentes o combinaciones de estas reacciones (Bollag *et al.*, 1992). De acuerdo a Senesi *et al.*, (2001) los AH altamente alifáticos con baja humificación como enmiendas orgánicas unen a los pesticidas por unión hidrófoba, en los AH bien humificados, las formas de unión son de tipo química. Los fumigantes pueden reaccionar con algunos grupos funcionales: $-NH_2$, $-NH$, $-SH$, $-OH$, $-COOH$ de la materia orgánica del suelo por sustitución nucleofílica (Schwarzenbach *et al.*, 1993). Los compuestos polares son adsorbidos a los AH por varios mecanismos de enlace: hidrógeno, iónico y de transferencia de carga, para los no polares o poco solubles en agua el mecanismo de unión a los AH es hidrofóbico (Senesi *et al.*, 2001). Spark y Swift (2002), estudiaron algunos plaguicidas y concluyeron que el principal factor que rige la sorción es la fracción orgánica en estado sólido con el contenido mineral de arcilla que influye significativamente. En experimentos de Zheng y Gan (2002) de sorción del pesticida imidacloprid en ácidos húmicos, fue significativamente mayor que en los minerales de la arcilla, indicando que el contenido de materia orgánica en el suelo fue una propiedad más importante que influyó en la adsorción del pesticida. El MITC posiblemente reacciona con los grupos carboxilo ($-COOH$) de la MO por sustitución nucleofílica, se desconoce la comprensión de éstos mecanismos que no han sido reportados (Warton *et al.*, 2001; Dungan *et al.*, 2003). La gallinaza mejora significativamente la adsorción del MITC, así como con el uso de acolchado, dado las

concentraciones residuales encontradas del MITC en suelo, surge la pregunta científica si los residuos del MITC afectarán a la plantula de tomate.

Relación de las prácticas agrícolas con parámetros fisicoquímicos y el MITC

La productividad se puede potenciar con una nutrición apropiada de los cultivos, lo que implica una cantidad de procesos químicos, físicos y biológicos que ocurren en el suelo que están influenciados por la mineralogía, la composición orgánica, la fertilización y el manejo del suelo (Fink *et al.*, 2016).

Los valores promedios de las propiedades fisicoquímicas del suelo encontradas a los 10 y 25 días después de la aplicación del fumigante fueron: % MO $1.6 \% \pm 0.57$, K 139.80 ± 0.2642 ppm, para P 10.24 ± 6.18 ppm y la concentración del MITC 2.40 ± 2.62 ppm. A los 25 días de la aplicación del MS los valores fueron: nitrógeno inorgánico 5.39 ± 1.08 ppm, pH con 7.23 ± 0.23 y la temperatura del suelo 23.32 ± 0.30 °C. A los 85 días después de la aplicación no se detecto restos de MITC.

Con el análisis de correlación se pudo demostrar dos relaciones importantes. La primera entre el contenido de MITC con el % MO ($r^2=0.915$) y P ($r^2 = 0.954$). Por otro lado se observa una baja relación entre el resto de las propiedades fisicoquímicas: N, K, T y pH. Los resultados se complementan con el análisis de regresión lineal destacando principalmente la relación entre MO–MITC con un modelo lineal (figura 2.2a) y P–MITC también con un modelo lineal (figura 2.2b), ajustando el modelo al 81.2 % y 91.3 % respectivamente.

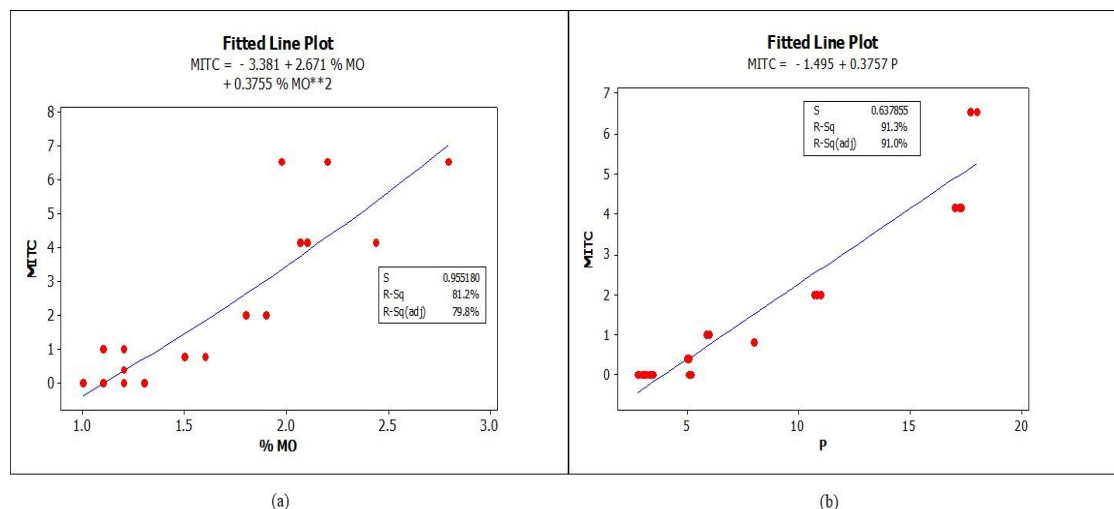
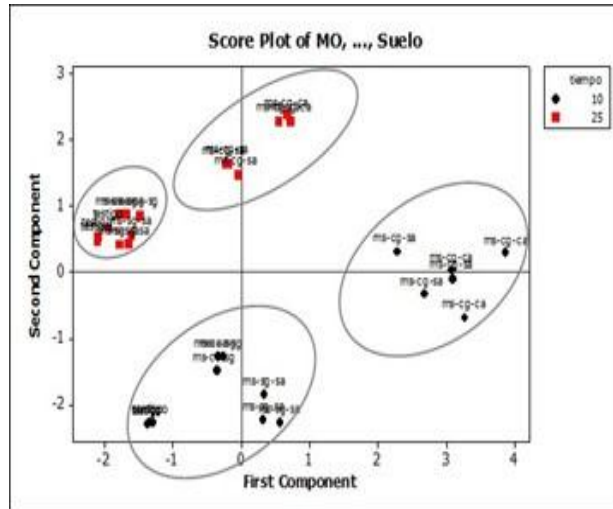


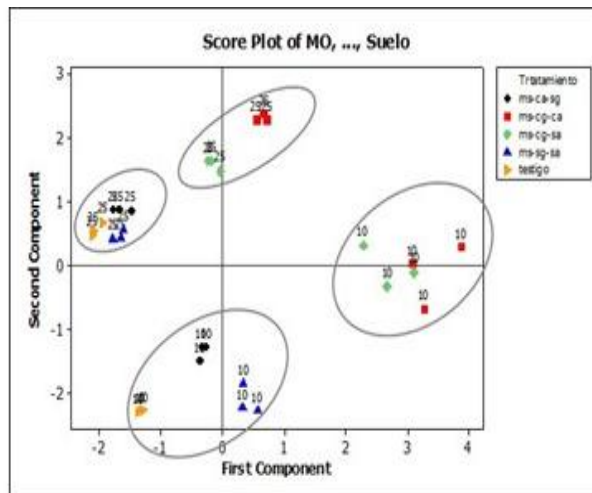
Figura 2.2. Análisis de regresión lineal entre variables de estudio: (a) materia orgánica (%), (b) fósforo (ppm) con metil isotiocianato (ppm).

En el análisis de componentes principales (figura 2.3a) se identifican cuatro grupos de datos de los cuales entre el primero y el segundo componente explican el 77% de la variación definidos por los días de muestreo del MS, de la misma forma se indica que en la figura 2.3b, se distinguen la agrupación de datos definida principalmente por las prácticas agrícolas ms-cg-ca y ms-cg-sa, a los 25 días. El segundo grupo de datos es definido por las prácticas agrícolas ms-ca-sg, ms-sg-sa y testigo, a los 25 días. A los 10 días se tiene un comportamiento similar entre las prácticas agrícolas. De los cuatro grupos dos de ellos se identifican por la práctica agrícola con adición de materia orgánica y los otros dos sin adición de materia orgánica.



(a)

Figura 2.3. Dispersión de datos derivados del análisis de componentes principales, para el tiempo a los 10 y 25 días después de la aplicación del metam sodio.



(b)

Figura 2.3. Dispersión de datos derivados del análisis de componentes principales, para las prácticas agrícolas (tratamientos) después de la aplicación del metam sodio.

Las propiedades físicas y químicas del suelo juegan un papel fundamental en la naturaleza de la interacción con el MITC. Las relaciones anteriores observadas entre éstos indicadores fisicoquímicos, son influenciadas debido a la naturaleza de la

composición de la materia orgánica del suelo (MOS), misma que actúa sustancialmente en las propiedades del suelo y la productividad agrícola (Ahmed *et al.*, 2015, Smith *et al.*, 2015).

Para éste estudio se obtuvo una correlación muy baja (0.335) entre el MITC y el pH, lo cual indica una baja influencia en la degradación del MITC. El promedio del pH en todas las prácticas agrícolas a los 10 y 25 días fue de 7.1 considerado neutro y con un tipo de suelo franco arenoso. En estudios realizados por Warton y Matthiessen (2005) no encontraron una correlación entre el pH y la degradación del MITC demostrado en experimentos de laboratorio, utilizando CaCl_2 para elevar el pH a 6.8 y 7.8 con aplicación de MS. Las concentraciones del MS se redujeron pero no se eliminó, cuando fue aplicado bi y trimestralmente (aplicaciones repetidas). El pH del suelo regula los procesos biogeoquímicos del suelo y tiene efectos en la estructura y las funciones del ecosistema terrestre (Hong *et al.*, 2018).

El P es uno de los elementos esenciales y también uno de los macronutrientes más importantes para la vida vegetal. El P juega un papel crucial en la fosforilación y en la producción de trifosfato de adenosina por fotosíntesis (Fink *et al.*, 2016). El fósforo añadido al suelo solo está parcialmente disponible para los cultivos, ya que se absorbe en cierta medida por diversos componentes del suelo, las especies de P inorgánico derivadas del ácido orto-fosfórico (H_3PO_4) tales como H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} son absorbidas preferentemente por las plantas (Fink, 2016). La dinámica del P en los suelos es influenciada fuertemente por las fases orgánicas e inorgánicas sólidas, la actividad biológica y los factores ambientales (De Campos *et al.*, 2016).

El ácido húmico, fosfato y los óxidos participan en los procesos bioquímicos de los ambientes naturales. El ácido orgánico interactúa con óxidos de hierro, cambiando las características de la adsorción de fosfatos en las superficies de óxidos de hierro (Wang *et al.*, 2015). La ferrihidrita es precursor del hidróxidos de hierro que absorbe ciertos contaminantes y nutrientes del suelo (Michel *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2013). El P soluble puede ser fuertemente adsorbido en la superficie de los óxidos de Fe y Al o precipitado como minerales de fosfato de Al y Fe (Iyamuremye *et al.*, 1996). El hierro oxidado puede ser inmovilizado en varios materiales como arena, tierra y zeolita (Kaplan *et al.*, 2016). Aniones como el fosfato y ácidos húmicos se adsorben

fuertemente en óxidos de Fe y Al (Iyamuremye *et al.*, 1996). El ácido húmico es un competidor por sitios de superficie y reduce la adsorción de fosfato (Perassi y Borgnino, 2014). Fu *et al.*, (2013), realizaron experimentos con hierro de goetita (α -FeOOH) y ácidos húmicos los cuáles forman complejos que reducen la cantidad de absorción de PO₄, debido a competencia por los sitios de adsorción.

Como se observa en los estudios anteriores el P de los suelos se encuentra en fases minerales y en formas orgánicas. Los procesos de adsorción-desorción importantes en el control de la solubilidad del P en suelos, aunque la precipitación y disolución de minerales también puede afectar a la solubilidad especialmente en suelos enriquecidos con P (Eriksson *et al.*, 2015). El aporte de fertilizantes puede explicar en gran medida la variación de concentración de P inorgánico y las formas de P orgánico, pero numerosos factores de estabilización interactúan en la estabilización del P en suelos, así como de procesamientos microbianos que interactúan en el control de rotación y acumulación de P (Stutter *et al.*, 2015). En el presente estudio el P y el MITC presentaron una alta relación lo cual podría ser a la debida a la relación que mantiene el P con la MO, ya que ésta, al ser soluble está representada por ácidos orgánicos de bajo peso molecular, puede alterar el ciclo de los metales biológicamente activos mediante reacciones de complejación, lo cual puede mejorar la absorción de P a través de óxidos altamente reactivos (Abdala *et al.*, 2015) y la gallinaza utilizada tiene un alto contenido de P (5 %).

Efectos de las prácticas agrícolas y el MITC en plántulas de tomate

La determinación de los siguientes parámetros son indicativos de la condición fisiológica de la plántula del tomate la cual, al ser afectada e interrumpirse el aparato fotosintético, causa una disminución de la productividad de la planta y el rendimiento en general, pudiendo deberse a las concentraciones de MITC encontradas en el suelo de estudio, y al efecto causado por las prácticas agrícolas.

Clorofila

Las plantas se encuentran sometidas tanto a estrés abiótico y biótico, como temperaturas extremas, sequía, salinidad, infección microbiana, herbicidas y a más productos químicos durante sus ciclos de vida (Wang *et al.*, 2015). La clorofila determinada en la plántula de tomate a los 5, 17, 24 y 31 días después del trasplante, no

mostraron diferencias significativas entre los tratamientos y las fechas (Figura 2.4). Los valores aquí obtenidos oscilaron de 3 a 4.5 mg g⁻¹ comparados con los reportados por Rodríguez *et al.*, (1998) (2 a 3.5 mg g⁻¹) y Jiang *et al.*, (2017) (1 a 2.5 mg g⁻¹) en hojas de tomate. Rehab y Salem, 2016 experimentaron con el pesticida Actra en plántulas de tomate, aumentando la clorofila a cuatro días de aplicación, aumentando 20, 15, 4.5, 32.8 y 4.1 % de aceite Actra + KZ, aceite Actra + Keme, aceite KZ, aceite Actra y Keme aceite Actra + KZ, aceite Actra + Keme, aceite KZ, Actra y Aceite de keme, comparado con el tratamiento de control, actuando como un estimulador a la producción de clorofila. Shakir *et al.*, (2016) evaluaron cuatro pesticidas (benzoato de emamectina, alfa-cipermetrina, lambda-cihalotrina e imidacloprid) en pigmentos fotosintéticos en plántulas de tomate, todos los pesticidas probados redujeron el crecimiento del tomate cuando se aplicaron en una concentración más alta que la dosis recomendada, pero a dosis más bajas, los pesticidas tuvieron efectos estimulantes en los pigmentos fotosintéticos y el crecimiento en comparación con el control.

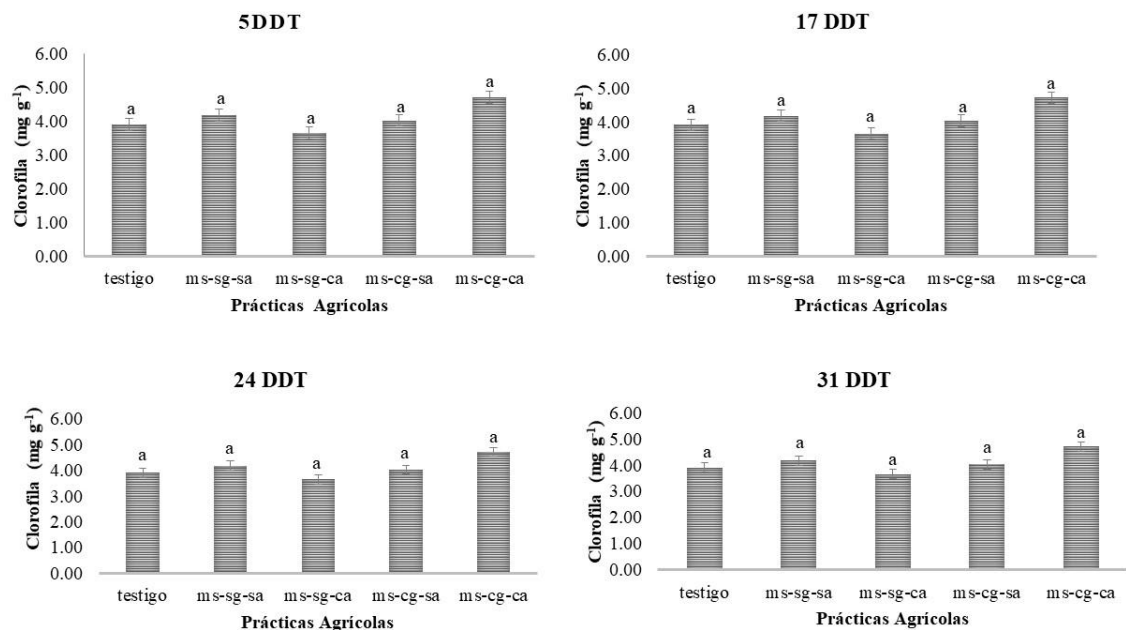


Figura 2.4. Análisis de clorofila en hojas de plántula de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a los 5, 17, 24 y 31 días después del trasplante.

NOTA: Letras diferentes indican diferencias significativas entre las prácticas agrícolas (tratamientos) con la concentración del metil isotiocianato a ($p \leq 0.05$).

Los plaguicidas pueden interferir con diversos procesos de las plantas como crecimiento celular, fotosíntesis, respiración, las reacciones biosintéticas y su composición molecular (De Lorenzo *et al.*, 2001). La clorofila, una base de materiales para la fotosíntesis, es el pigmento fotosintético más importante (Jiang *et al.*, 2017). Los resultados en cada fecha de muestreo (Figura 2.4), sugiere que hubo asimilación de nitrógeno, ya que éste es parte fundamental para la formación de la molécula de clorofila.

Prolina

Los resultados indican que a los cinco días después del trasplante, la prolina no se acumuló significativamente entre las plántulas de las prácticas agrícolas (tratamientos) (0.2 mg g^{-1}), pero a los 31 días el máximo aumento fue para la práctica agrícola ms-cg-ca con 0.91 mg g^{-1} (193 %) y después para la práctica ms-cg-sa con 0.8 mg g^{-1} (170 %) (Figura 2.5). En plántulas de tomate de 21 días de crecimiento, la prolina fue determinada en peso seco y mostró valores bajo estrés de 2.5 a 4 mg g^{-1} (Moles *et al.*, 2018).

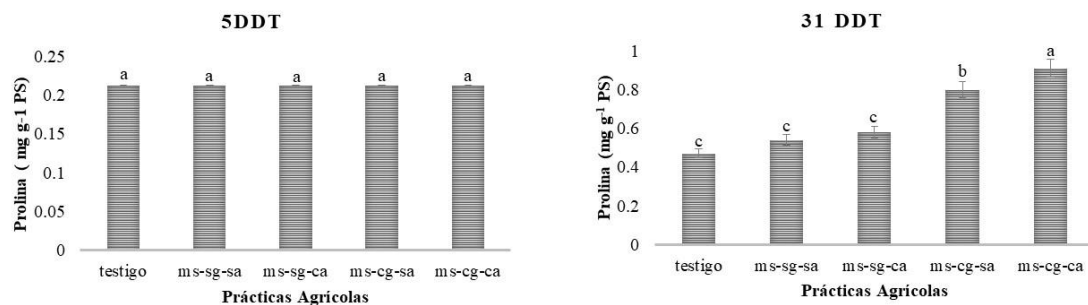


Figura 2.5. Análisis del contenido de prolina en materia seca de hojas de tomate a los 5 y 31 días después del trasplante para cada uno de las prácticas agrícolas (Tratamientos).

NOTA: Letras diferentes indican diferencias significativas entre las prácticas agrícolas (tratamientos) ($p \leq 0.05$).

La acumulación de prolina puede ser parte de la adaptación general a condiciones ambientales adversas (Brake *et al.*, 2017). La acumulación de osmoprotectores se demostró en plantas en respuesta a varios estreses abióticos, responden al calor o ambientes salinos a través de múltiples mecanismos fisiológicos, metabólicos y moleculares, están interconectados y finamente ajustados para crear respuestas específicas que conducen a la aclimatación de la planta a ambientes cambiantes (Rivero *et al.*, 2014). Los presentes resultados podrían deberse a el efecto de práctica agrícola por las sales de la gallinaza (30% MO) porque la prolina también aumenta con concentraciones crecientes de salinidad, y esto también puede ser causado por el desarrollo propio de la planta. Los resultados actuales sugieren una relación positiva entre la toxicidad de los pesticidas y el aumento de la prolina en los tejidos y revelan un papel adaptativo de la prolina para mitigar los efectos dañinos de la toxicidad de los pesticidas.

Fluorescencia de clorofila

Alteraciones en los valores de los parámetros fotosintéticos, como la inhibición de la fotosíntesis, son buenos indicativos del estrés en la planta de tomate ya que el crecimiento, rendimiento y la fotosíntesis están interconectados (Rivero *et al.*, 2014). En los fotosistemas (PSI y PSII) los pigmentos fotosintéticos al ser dañados por factores de estrés, resultaran en menor eficiencia de absorción de luz (Ashraf y Harris, 2013). La fluorescencia de clorofila es una medida no invasiva de la actividad del fotosistema II (PSII). La sensibilidad de la actividad del PSII a factores abióticos y bióticos ha hecho de esta una técnica clave no solo para comprender los mecanismos fotosintéticos, y un indicador amplio de cómo las plantas responden al cambio ambiental, en hoja vegetal sin estrés F_v / F_m es de 0.81-0.83 (Murchie y Lawson, 2013).

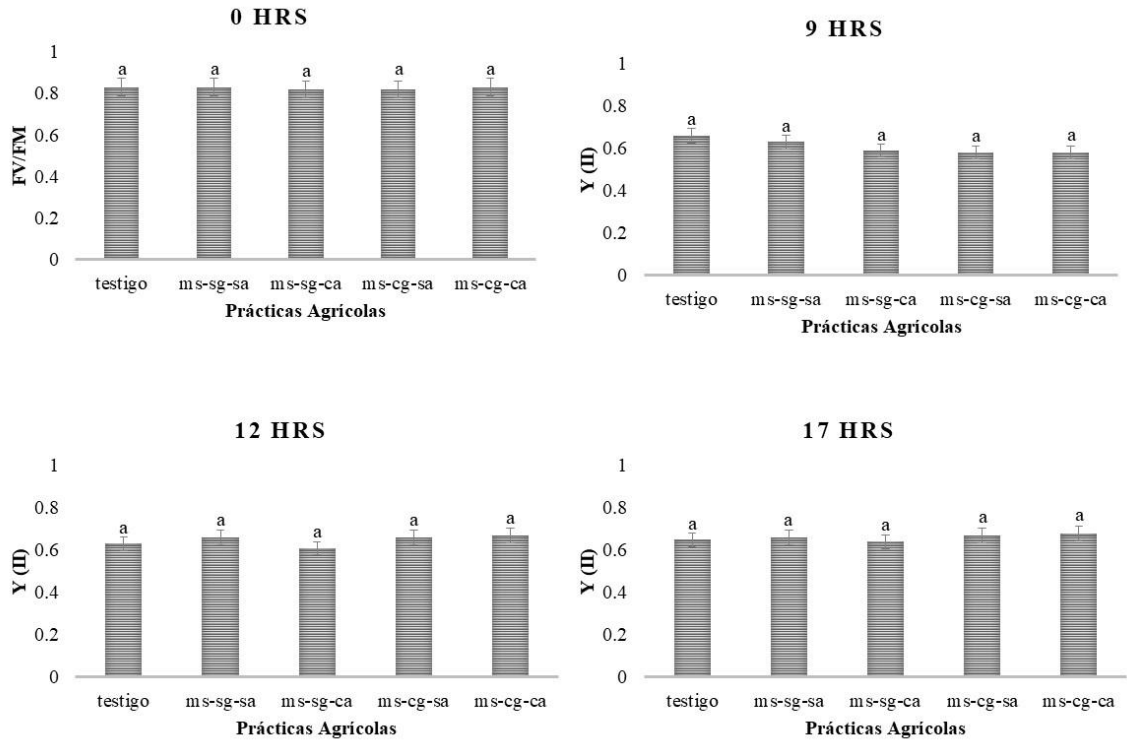


Figura 2.6. Análisis de rendimiento cuántico máximo Y(II) (Fv/Fm) en la hoja de plántula de tomate a día 31 después del trasplante a las 0, 9, 12 y 17 horas.

NOTA: Letras diferentes indican diferencias significativas entre las prácticas agrícolas (tratamientos) con la concentración del metil isotiocianato a ($p \leq 0.05$).

No se muestran diferencias significativas entre las prácticas agrícolas (Figura 2.6), para el fotosistema de las plántulas de tomate. Dentro de los valores encontrados para Y(II) éstos se encuentran dentro del rango de 0.7 a 0.85, éstos resultados son acordes a los de Diao *et al.* (2014), en plántulas de tomate consideradas no estresadas. Estos resultados observados sugieren que las plántulas de tomate no sufren deficiencia fotoquímica y mantienen sus tasas de fotosíntesis adecuadas, por lo cual, no se tiene pérdida de integridad de las membranas tilacoides.

Área foliar.

El área foliar presenta diferencias significativas entre los diferentes tratamientos siendo el mayor valor para los cuatro muestreos presentado en la práctica agrícola ms-cg-ca. Las hojas son uno de los principales componentes de la planta que participan en la

producción de biomasa vegetal a través de la fotosíntesis (Tondjo *et al.*, 2015). En la figura 7 se muestran las diferencias significativas entre el área foliar a los 5, 17, 24 y 31 días después del trasplante, en donde el mayor valor fue para el tratamiento ms-cg-ca en los cuatro muestreos realizados.

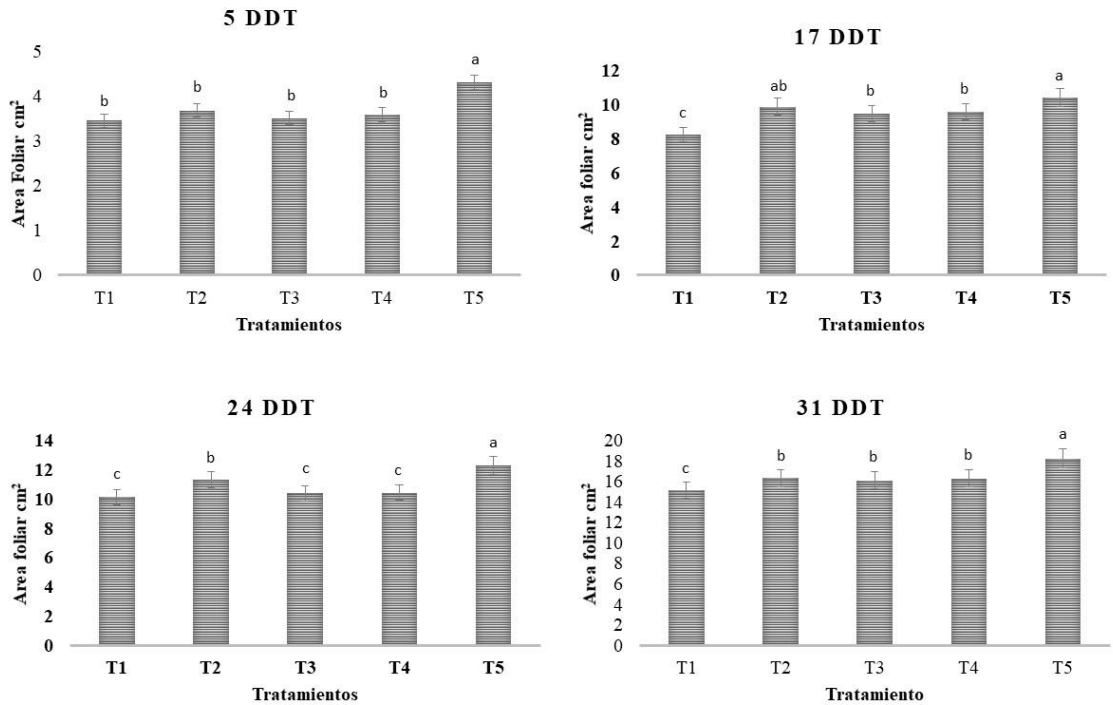


Figura 2.7. Análisis de área foliar a los 5 (a), 17 (b), 24 (c) y 31 (c) días después del trasplante de la plántula de tomate.

El área foliar de cultivos es importante en estudios fisiológicos y agronómicos, permitiendo la estimación del rendimiento, entre otras características. Es uno de los parámetros más comunes evaluados en los estudios ecofisiológicos de invernadero y de campo (Wang y Zhang, 2012). La hoja es el lugar principal donde se produce la fotosíntesis, la estimación del área foliar es necesaria para el análisis del crecimiento del cultivo, con este proceso, las plantas pueden desarrollarse, a través de su capacidad para producir carbohidratos, no solo por la superficie sino también por la eficiencia foliar (Rodríguez *et al.*, 2016)

Peso de la biomasa en fresco y seco

El peso fresco de la plántula a los 5 días después del trasplante fue mayor en la práctica agrícola ms-cg-ca (5.5 g), seguida por ms-cg-sa, ms-sg-ca, ms-sg-sa y el testigo (Figura 2.7 a), mostrándose diferencias significativas. Lo mismo sucedió a los 31 días, el mayor valor lo presentó ms-cg-ca (189 g) (Figura 2.7 b).

El peso seco a los 5 días no se mostraron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 2.7 c). A los 31 días el peso seco (Figura 2.7 d), si mostró diferencias significativas entre tratamiento, el mayor peso seco fue para ms-cs-ca, seguido por ms-cg-sa.

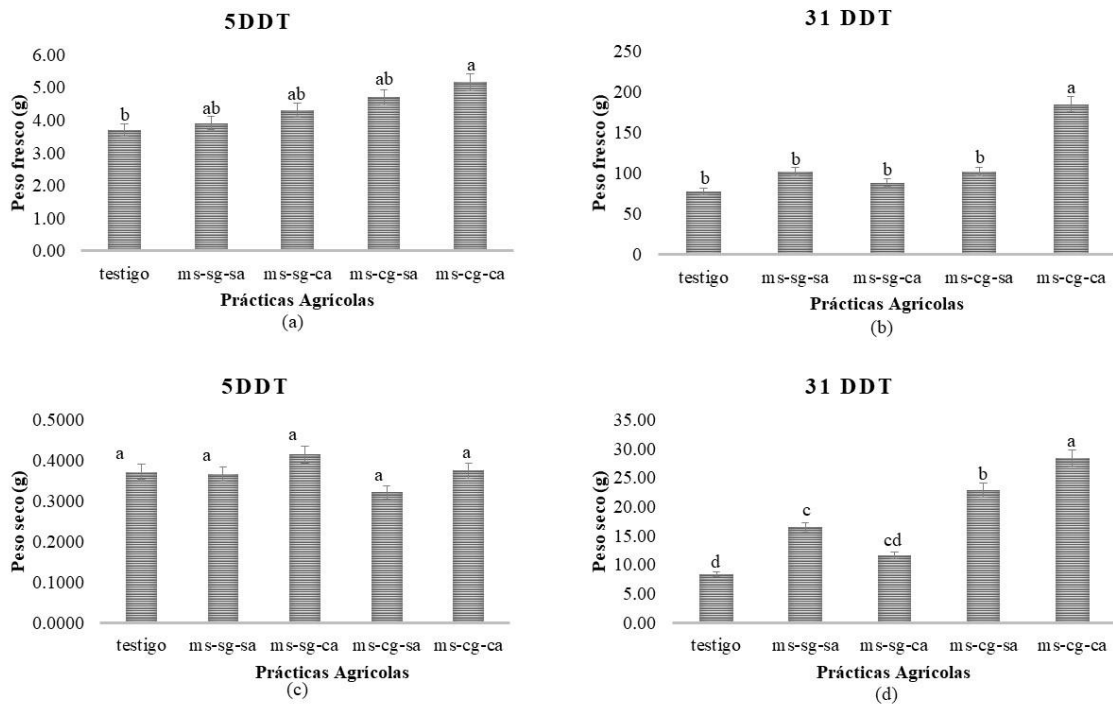


Figura 2.8. Análisis de peso fresco (a y b) y peso seco (c y d) de la plántula de tomate a los 5 y 31 días después del trasplante.

NOTA: Letras diferentes indican diferencias significativas entre las prácticas agrícolas (tratamientos) con la concentración del metil isotiocianato a ($p \leq 0.05$).

En general, los pesticidas pueden causar daño oxidativo en plantas expuestas, lo cual aumenta actividad de enzimas antioxidantes, el aumento de prolina es importante para la desintoxicación de especies reactivas de oxígeno (Gopi *et al.*, 2007, Jaleel *et al.*, 2007). De acuerdo a Petit *et al.*, (2012) los pesticidas pueden inhibir a la biosíntesis de la clorofila retardando la integración de la clorofila a los fotosistemas. El área de la hoja y la biomasa seca, son parámetros clave vinculados al crecimiento y producción de la planta (Tondjo *et al.*, 2015). Los beneficios de las prácticas agronómicas como el uso de gallinaza y acolchado fueron mayores al daño fisiológico observado en las plántulas de tomate.

CONCLUSIONES

La acción conjunta de la gallinaza y el acolchado plástico en los surcos del suelo, conllevan a la persistencia del MITC, hasta la etapa de plántula de cultivo de tomate (25 días después del transplante), siendo posible que el contenido de materia orgánica aportada el principal mecanismo de retención del MITC, en contenido suficiente para afectar parte de la fisiología de las plántulas y su crecimiento a los 31 días después del transplante. El contenido de clorofila y la eficiencia del fotosistema II no se vieron afectadas. Sin embargo, se encontraron efectos significativos para los contenidos de prolina, biomasa fresca y seca, a los 31 días después del transplante.

LITERATURA CITADA

- Abdala, Dalton Belchior., I. Ribeiro, L. Vergütz, D. Lewis. 2015. Long-term manure application effects on phosphorus speciation, kinetics and distribution in highly weathered agricultural soils. *Chemosphere*, 119, pp 504-514.
- Ahmed, A. A., S. Thiele-Brunh, S. G. Aziz, R.H. Hilal, S. A. Elroby, A. O. Al.Youbi, P. Leinwebwe, O. Kühn. 2015. Interaction of polar and nonpolar organic pollutants with soil organic matter: Sorption experiments and molecular dynamics simulation. *Sci. Total Environ.* 508:267-287.
- Alori, E. T., B. R. Glick and O.O. Babalola. 2017. Microbial phosphorus solubilization and Its potential for use in sustainable agriculture. *Frontier Microbiology.* 8:1-8.

- Ashraf, M. and P. J. C. Harris. 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*, 51:2, pp 163-190.
- Barriuso, E., M. S. Andrades, P. Benoit, S. Houot. 2011. Pesticide desorption from soils facilitated by dissolved organic matter coming from composts: experimental data and modelling approach. *Biogeochemistry*, 106, pp 117–133.
- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39:205-207.
- Brake, Mohammad H., H. R. Hamasha, H. M. Migdadi, A. O. Khashroum, M. Al-Gharaibeh, M. M. Qaryouti, M. T. AL-Khatib. 2017. Influence of Storage Temperature and Duration of Tomato Leaf Samples on Proline Content. *Europ. Cientif. Journal*, 13:6, pp 1857-7881.
- Bollag, J. M., C. J. Myers, R. D. Minard. 1992. Biological and chemical interaction of pesticides with soil organic matter. *Science of The Total Environment*. 123-124:205-217.
- Bourguet, D., T. Guillemaud. 2016. The Hidden and External Costs of Pesticide Use. In: Lichtfouse E. (eds) *Sustainable Agriculture Reviews*. Sustainable Agriculture Reviews, vol 19. Springer, Cham. pp:35-120.
- Cakmak, I. 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 168, pp. 521-530.
- Castellanos, Z. J.; 2008. Manual de producción de Tomate de Invernadero. Rev. INTAGRI (Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura). México. 31 p.
- Chellemi, D. O., H. A. Ajwa, D. A. Sullivan. 2010. Atmospheric flux of agricultural fumigants from raised-bed, plasti-mulch crop production system. *Atm. Environ*. 44:39, pp 5279-5286.
- De Campos Murilo, J. A. Antonangelo, L. R. Ferracciú. 2016. Phosphorus sorption index in humid tropical soils. *J. Soil and Tillage Reseach*. 156:110-118.
- Diao, M., Ma, L., J Wang, J. Cui, A. Fu, H. Liu. 2014. Selenium promotes the Growth and Photosynthesis of Tomato Seedling Under Salt Stress by Enhancing Chloroplast Antioxidant defense System. *J Plant Growth Regul*. 33:671-682.

- Doran, J. W., Zeiss, Michael R. 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*. 15(1):3-11.
- Dungan, R. S. and S. R. Yates. 2003. Degradation of Fumigant Pesticides. *Vadose Zone Journal* 2;3, pp 279-286.
- Dungan, Roberts S., G. Jianying, S. R. Yates. 2003. Acelerated Degradación of Methyl Isotiocianate in Soil. *Water, Air and Soil Pollution*, 142:1-4, pp 299-310.
- Eriksson, Ann Kristin., J. P. Gustafsson, D. Hesterberg. 2015. Phosphorus speciation of clay fractions from long-term fertility experiments in Sweden. *Geoderma*, 241:242, pp 68-74.
- Estrada-Herrera, R. I., C. Hidalgo-Moreno, R. Guzmán-Plazola. J. J. Almazán-Suárez, H. Navarro-Garza, J. D. Etchevers-Barra. 2017. Indicadores de calidad del suelo para evaluar su fertilidad. *Agrociencia*. 51:813-831.
- Franz Bender, S., C. Wagg, M. G. A. van der Heijden. 2016. An Underground Revolution: Biodiversity and Soil Ecological Engineering for Agricultural Sustainability. *Trends in Ecology & Evolution*, 31:6, pp 440-452.
- Garrigues, E. C., M.S., Angers, D.A. et al. 2013. *Int J Life Cycle Assess.* 18:1316-1324. <https://doi.org/10.1007/s11367-013-0586-0>
- Gopi, R., C. A. Jaleel, R. Sairam, et al. 2007. Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on biomass, electrolyte leakage, lipid peroxidation and antioxidant potential of *Daucus carota* L. *Colloid Surface B*, 60, pp 180–186.
- Guo, M., S. K. Papiernik, W. Zheng, S. R. Yates. 2003. Formation and extraction of persistent fumigant residues in soil. *Environmental Science and Technology* 37:9, pp 1844-1849.
- Hwang, S.F., Ahmed, H.U., Strelkov, S.E. 2017. Effects of rate and application method on the efficacy of metam sodium to reduce clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) of canola. *Journal of Plant Pathology*. Ed. Springer Netherlands. Print ISSN 029-1873.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) 2016. Clima información por entidad. www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/slp/territorio/clima.aspx?tema=me&e=24. (Acceso: marzo 2016).
- Iyamuremye, F., R. P. Dick, J. Baham. 1996. Organic amendments and phosphorus dynamics: I. Phosphorus chemistry and sorption. *Soil Science*, 161:7, pp 426-435.

- Jaleel, C.A., R. Gopi, R. Panneerselvam. 2007. Alterations in lipid peroxidation, electrolyte leakage, and proline metabolism in *Catharanthus roseus* under treatment with triadimefon, a systemic fungicide. *C. R. Biol.* 330, pp 905–912.
- Jiang, Ch., M. Johkan, M. Hohjo, S. Tsukagoshi, T. Maruo. 2017. A correlation analysis on chlorophyll content and SPAD value in tomato leaves. *Hort. Research.* 71:37-42.
- Kaplan B. Sehnaz Sule., N. Ozgu Yigit, B. I. Harman, M. Kitis. 2016. Hybrid Adsorptive and Oxidative Removal of Natural Organic Matter Using Iron Oxide-Coated Pumice Particles. *Journal of Chemistry.* Hindawi Publishing Corporation. Article ID 3108034, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3108034>
- Kassie Menale., H. Teklewold, M. Jalet, P. Marenya, O. Erenstein. 2015. Understanding the adoption of a portfolio of sustainable intensification practices in Eastern and sothern Africa. *Land Use Policy*, 42 pp, 400-411.
- Laincon. 2010. Informe Técnico de Laisol desinfectante de suelos. Disponible en: www.lainco.es/files/pdf/9132%20LAISOL.pdf. (Acceso: enero 2016).
- Lehmann, J., and M. Kleber. 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature (International Journal of Science)*. 528:60-68.
- Liu, Xiao E., X. G. Li, L. Hai, Y. P. Wang. F. M. Li. 2014. How efficient is film fully-mulched ridge-furrow cropping to conserve rainfall in soil at a rainfed site?. *Field Crops Research* 169, pp 107.115.
- Memon, M. S., Z. Jun, G. Jun, F. Ullah, M. Hassan, S. Ara, J. Changying. 2017. Comprehensive review for the effects of ridge furrow plastic mulching on crop yield and water use efficiency under different crops. *Journal International Agricultural Engineering.* 26(2):58-67.
- Moles, T. M., L. Mariotti, L. F. De Pedro, L. Guglielminetti, P. Picciarelli, A. Scartazza. 2018. Drought induced changes of leaf-to-root relationships in two tomato genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry.* 128:24–31.
- Murchie, E. H. and T. Lawson. 2013. Chlorophyll fluorescence analysis: guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany*, pp 1-16. doi:10.1093/jxb/ert208

- Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2001. 2001. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Distrito Federal, México. Gaceta Ecológica. 61:77-85.
- Peruga, A., J. Beltán, F. López. 2014. Determination of methylisothiocyanate in soil and water by HS-SPME followed by GC-MS-MS with a triple quadrupole. *Anal Bioanal Chem.* 406: 5271-5282.
- Peshin, R., W. Zhang. 2014. Integrated Pest Management and Pesticide Use. In: Pimentel D., Peshin R. (eds) *Integrated Pest Management*. Springer, Dordrecht.
- Petit, A.N., F. Fontaine, P. Vatsa, C. Clément, N. Vailant-Gaveau, N. 2012. Fungicide impacts on photosynthesis in crop plants. *Photosynth. Res.*, 111, pp 315–326.
- Poniso, L. C., L. K. M'Gonigle, K. C. Mace, J. Palomino, P. de Valpine, C. Kremen. 2015. Diversification practices reduce organic to conventional yield gap. *Proc. R. Soc. B* 282: 20141396. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.1396>
- Rehab E. M., El-Said Salem. 2016. Side Effects of certain pesticides on Chlorophyll and Carotenoids Contents in Leaves of Maize and Tomato Plants. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 5:4, pp 566-571. ISSN 2007-4605.
- Rivero, R.M., T.C. Mestre, R.O.N. Mittler, F. Rubio, F. Garcia-Sanchez, V. Martinez. 2014. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. *Plant Cell Environ.* 37:1059-1073.
- Rodríguez, Ma. N., G. Alcántar González, A. Aguilar Santelises, J. D. Echevers Barra, J.A. Santizó Rincón. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra* 16:2, pp 135-141.
- Rodríguez, Richard Alberto., S. J. Lopes, A. Swarowsky, R. Rosales, C. Urbanetto, M. Maffei. 2016. Non-destructive to estimate leaf area on bell pepper crop. *Ciencia Rural Santa Maria*, 46:11, pp 1938-1944. ISSN 1678-4596.
- Schellekens, J., P. Buurman, K. Kalbitz, A. V. Zomeren, P. Vidal-Torrado, C. Cerli, R. N. Comans. 2017. Molecular features of humic acids and fulvic acids from contrasting environments. *Environ Sci Technol*, 51, pp 1330–1339.
- Senesi, N. 1992. Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Sci Total Environ*, 123–124, pp 63–76.

- Shabnam, N., I. Tripathi, P. Sharmila, P. Pardha. 2016. A rapid, ideal, and eco-friendlier protocol for quantifying proline. *Protoplasma*. 253:1577-1582.
- Shakir, S.K., M. Kanwal, W. Murad, Z. ur Rehman, S. ur Rheman, M. K. Daud, A. Azizullah. 2016. Effect of some commonly used pesticides on seed germination, biomass production and photosynthetic pigments in tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Ecotoxicology*, 25:329, pp 329-341. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1591-9>
- Smith, P., M.F. Cotrufo, C. Rumpel, K. Paustian, P.J. Kuikman, J.A. Elliott, R. McDowell, R.I. Griffiths, S. Asakawa, M. Bustamante, J.I. House, J. Sobocká, R. Harper, G. Pan, P.C. West, J.S. Gerber, J.M. Clark, T. Adhya, R.J. Scholes, M.C. Scholes. 2015.
- SNITT (Agencia Nacional de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología Agrícola) 2016- 2022. 2016. SAGARPA-SNITT. Primera Edición. 192 p.
- Spark, K. M., R. S. Swift. 2002. Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *Science of the Total Environment*, 298:1-3, pp 147-161.
- Stutter, Marc I., Ch. A. Shand, T. S. George, M. S.A. Blackwell, L. Dixon, R. Bol, L. McKay, A. E. Richardson, L. M. Condron, P. M. Haygarth. 2015. Land use and soil factor affecting accumulation of phosphorus species in temperate soils. *Geoderma*, 257-258, pp 29-39.
- Tadeo, J. L., J. Castro and C. Sánchez. 2004. Multiresidue determination in soil of pesticides used in tomato crops by sonication-assisted extraction in small columns and gas chromatography. *J. Environ. Anal. Chem.* 84 (1-3):29-37.
- Triky-Dotan, A. S.; Steiner, M.; Peretz-Alon, B.; Katan, Y. and Gamliel, J.A. 2009. Accelerated Degradation of Metam-Sodium in Soil and Consequences for Root-Disease Management. *Phytopathology*. 99(4): 362-368.
- Tondjo, K., L. Brancheriau, S.A. Sabatier, A.d. Kokutse, A. Akossou, K. Kokou, T. Fourcaud. 2015. Non-destructive measurement of leaf area and fry biomass in *Tectona grandis*. *Trees*, 29:5, 16251631.
- Wang Y., S.Y. Cai, L.L. Yin, K. Shi, X.J. Xia, Y.H. Zhou, J.Q. Yu, J. Zhou. 2015. Tomato HsfA1a plays a critical role in plant drought tolerance by activating ATG genes and inducing autophagy. *Autophagy*, 11, pp 2033-2047.

- Wang, Z. and L. Zhang. 2012. Leaf shape alters the coefficients of leaf area estimation models for *Saussurea stoliczkai* in central Tibet. *Photosynthetica*, vol. 50, no. 3, pp 337-342. <http://dx.doi.org/10.1007/s11099-012-0039-1>.
- Warton, B., J. N. Matthiessen, & M.M. Roper. 2001. The soil organisms responsible for the enhanced biodegradation of metham sodium. *Biol. and Fertility of Soils*. 34:4. pp 264-269.
- Wienhold, B., S. Andrews & D. Karlen. 2004. *Environmental Geochemistry and Health* 26: 89. <https://doi.org/10.1023/B:EGAH.0000039571.59640.3c>
- Witwicki, M., M. Jerzykiewicz, A. Ozarowski. 2015. Understanding natural semiquinone radicals - Multifrequency EPR and relativistic DFT studies of the structure of Hg(II) complexes. *Chemosphere*, 119, pp 479–484.
- Zhang Y., K. Spokas, and D. Wang. 2005. Degradation of Methyl Isothiocyanate and Chloropicrin in Forest Nursery Soils. *J. Environ. Quality*, 34:1566-1572. Doi: 10.2134/jeq2004.0374.
- Zörb, C., M. Senbayram, E. Peite. 2014. Potassium in agriculture – status and perspectives. *J. Plant Physiol.*, 171, pp 656-669.

CONCLUSION GENERAL

Las conclusiones del trabajo de tesis doctoral “**Estudio del metam sodio (N-metil ditiocarbamato de sodio) en agroecosistemas intensivos: efectos en la microbiología del suelo, persistencia y fisiología de tomate (*solanum lycopersicum* L.)**” se presentan con base en los dos estudios que lo conformaron, para sustentar el impacto del uso del MS en relación a las prácticas agrícolas en sistemas protegidos con cultivo de tomate.

IMPACTO DE METAM SODIO EN LA DIVERSIDAD BACTERIANA DE UN SUELO CULTIVADO CON TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN INVERNADERO

Se estudió el efecto del MS con una concentración baja (400 L ha^{-1}) en el sistema de producción intensiva de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), durante la evolución del cultivo del agroecosistema hortícola, analizado primeramente el efecto en el componente biótico como son los microorganismos del suelo especialmente la diversidad bacteriana la cual se vio afectada en la diversidad (H' , J') pero no en la riqueza con cambios en la población autóctona. La estructura de la comunidad, durante todo el tiempo de la evolución del cultivo (trasplante, floración y fructificación), fueron marcados por las *phyla* *a-Proteobacteria*, *g-Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Agrobacterium* las cuales se encuentran dentro de las bacterias más abundantes en los suelos agrícolas. En cuanto a la función nitrificadora, experimentos en laboratorio no mostraron impacto negativo en dicha función.

1. RELACIÓN DE PRÁCTICAS AGRONÓMICAS CON CONTENIDO Y PERSISTENCIA DEL METIL ISOTIOCIANATO EN SUELO Y EFECTOS EN PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN POST-TRASPLANTE.

Para el estudio de la persistencia del MS y la relación de las prácticas agronómicas se utilizó una concentración de media de $600 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$. Se determina que la relación del uso de la gallinaza y el uso de la técnica agrícola del acolchado

es una condicionante de interés sobre el contenido y la persistencia del MITC en el suelo. Asimismo, se demostró que el factor tiempo de aplicación del MITC y la relación con la práctica agrícola están significativamente relacionadas. La adición de gallinaza incrementa el contenido de MO el cual se adsorben diversos componentes del suelo y mantuvo una correlación alta con el MITC. Siendo posible que la acción conjunta de la gallinaza y el acolchado plástico provocaran la persistencia del MITC, en contenidos suficientes para que se viera afectada la fisiología de la plántula de tomate en los contenidos significativos de prolina y biomasa tanto fresca como seca a los 31 días después del transplante, evidenciando un estrés por los contenidos de MITC en el suelo.

ANEXO

1. Nota Científica “Sodium N-methyldithiocarbamate impact on soil bacterial diversity in greenhouse tomato (*Solanum lycopersicum* L.) crop”.

Rev. FCA UNCUYO.

ISSN impreso 0370-4661. ISSN (en línea) 1853-8665.

Sodium N-methyldithiocarbamate impact on soil bacterial diversity in greenhouse tomato (*Solanum lycopersicum* L.) crop

Impacto de metam sodio en la diversidad bacteriana de un suelo cultivado con tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en invernadero

Alejandra Hernández Montoya ¹, Juan Carlos Rodríguez Ortiz ¹, Paola Elizabeth Díaz Flores ², Jorge Alonso Alcalá Jáuregui ¹, Edgar Moctezuma Velázquez ², José Pablo Lara Ávila ¹

Originales: Recepción: 22/08/2017 - Aceptación: 03/05/2018

Nota científica

ABSTRAC

The constant use of sodium N-methyldithiocarbamate (metam sodium: MS) in protected agriculture in México has attracted the attention of researchers and producers on their effects on the environment. The objective of this study was to evaluate the impact of MS on the bacterial community structure in an agricultural soil with tomato crop (*Solanum lycopersicum* L.) considering the different phenological stages of the crop. The experiment was carried out in a greenhouse, with a completely randomized block design with two treatments: 1) without MS and 2) with application of 400 L·ha⁻¹ of MS. For the determination of the bacterial structure, the biodiversity indexes of richness (S), diversity (H') and equity (J'), identification of operational taxonomic units (OTU) were used through the T-RFLP technique. Application of MS in soil showed no significant effect on bacterial richness. However, the application of MS does alter the structure of the bacterial community (H' and J') in each of the tomato phenological stages. Finally, future studies which include the evaluation of the effects of MS on the physiology of intensive crops and functions in the different soil types are need.

Keywords

biodiversity indexes • soil • T-RFLP • bacterial community

