

## *Rhizobium phaseoli* tolerante a un insecticida en el crecimiento de *Phaseolus vulgaris*

### *Rhizobium phaseoli* tolerant to insecticide on the growth of *Phaseolus vulgaris*

Santoyo-Pizano Gustavo<sup>1</sup>, Hernández-Mendoza José Luis<sup>2</sup>, Márquez-Benavides Liliana<sup>1</sup>, De Luna-Esquivel Gustavo<sup>3</sup> Sánchez-Yáñez Juan Manuel<sup>1\*</sup>



#### Datos del Artículo

<sup>1</sup>Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.  
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.  
Laboratorio de Microbiología Ambiental.  
Edif. B-3, Ciudad Universitaria.  
Francisco J. Mujica S/N Felicitas del Rio.  
C.P. 58000, Morelia.  
Michoacán, México.  
Tel: +0052 44 33 22 3500 ext. 4240  
<sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional.  
Centro de Biotecnología Genómica.  
Boulevard del Maestro S/N esq. Elías Piña.  
Col. Narciso Mendoza, CP. 88710  
Cd. Reynosa, Tamaulipas. México  
Tel: +52(55) 5729 6000  
<sup>3</sup>Universidad Autónoma Chapingo.  
Departamento de Preparatoria Agrícola.  
Km. 38.5 Carretera Federal México-Texcoco.  
Chapingo, Estado de México. C.P. 56230.  
Tel: 01595 95 21677.

#### \*Dirección de contacto:

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.  
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.  
Laboratorio de Microbiología Ambiental.  
Edif. B-3, Ciudad Universitaria.  
Francisco J. Mujica S/N Felicitas del Rio.  
C.P. 58000, Morelia.  
Michoacán, México.  
Tel: +0052 44 33 22 3500 ext. 4240

#### Sánchez-Yáñez Juan Manuel

E-mail address : [svanez@umich.mx](mailto:svanez@umich.mx)

#### Palabras clave:

Suelo,  
*R. phaseoli*,  
*P. vulgaris*,  
simbiosis,  
fijación biológica N<sub>2</sub>,  
insecticidas insectos-plaga.

*J. Selva Andina Res. Soc.*  
**2021; 12(1):30-37.**

ID del artículo: [146/JSARS/2020](https://doi.org/10.146/JSARS/2020)

#### Historial del artículo.

Recibido julio 2020.  
Devuelto noviembre 2020.  
Aceptado diciembre 2020.  
Disponible en línea, febrero 2021.

*Editado por:*  
**Selva Andina  
Research Society**

#### Keywords:

Soil,  
*R. phaseoli*,  
*P. vulgaris*,  
symbiosis,  
biological N<sub>2</sub> fixing,  
insecticides, insect-pest.

#### Resumen

El género y especie *Rhizobium phaseoli* es usado como inoculante en la producción de *Phaseolus vulgaris* (fríjol), porque en los nódulos de sus raíces, establece una simbiosis para fijar el nitrógeno molecular (FBN) y suplir la demanda de nitrógeno (N) para un crecimiento sano. En el cultivo de *P. vulgaris* se aplican plaguicidas en el control de insectos plaga de raíz, que evitan el efecto benéfico de *R. phaseoli*, por lo que los objetivos de este trabajo fueron aislar y seleccionar *R. phaseoli* tolerante a diazinón. Para ello, *R. phaseoli* se creció en caldo extracto levadura manitol con diazinón y selecciono *R. phaseoli* tolerante al insecticida e inoculó en *P. vulgaris* para determinar la infectividad con base en el número de nódulos, mientras que la efectividad para la FBN en la raíz, de acuerdo al incremento en el peso fresco y seco, en la altura de la planta, y en la capacidad para degradar el diazinón. Se concluye que el *R. phaseoli* tolerante a diazinón fue infectivo y efectivo para el sano crecimiento de *P. vulgaris*.

2021. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

#### Abstract

The genus and species of *Rhizobium phaseoli* are useful as an inoculant for the production of *Phaseolus vulgaris* (beans) in the root nodules symbiotic stage fixes molecular nitrogen (FN) for supplying nitrogen (N) for healthy growth. In *P. vulgaris* cropping, pesticides are used to control root insects, which could reduce the beneficial effect of *R. phaseoli*. The purpose of this work was to isolate and select *R. phaseoli* diazinon's tolerance. In that sense, *R. phaseoli* were cultivated in a medium mixed with diazinon in order to select *R. phaseoli* tolerant to the pesticide. This mutant of *R. phaseoli* tolerant to diazinon was inoculated in *P. vulgaris* the effect was evaluated 45 days later. The response of *P. vulgaris* was measured by the number of effective nodules at the roots, fresh and dry weight, and the height of the plant. Results showed that *R. phaseoli* tolerant to diazinon kept its beneficial activity for the healthy growth of *P. vulgaris*. It was concluded that *R. phaseoli* tolerant to diazinon were infective and effective for the health growth of *P. vulgaris*.

2021. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. All rights reserved.

## Introducción

La simbiosis entre las leguminosas y *Rhizobium*, es fundamental en la agricultura por el impacto positivo que tiene en el cultivo y consumo de *Phaseolus vulgaris* y de otras leguminosas<sup>1</sup>. El inocular semilla de *P. vulgaris* con *R. phaseoli* evita la hiperfertilización nitrogenada al suelo, además de que asegura el sano crecimiento y rendimiento rentable de *P. vulgaris*<sup>1</sup> cuyo grano es considerado como uno de los principales en México, en principio por el alto consumo y producción, de ahí la importancia económica<sup>2</sup>.

Uno de los problemas para asegurar un sano crecimiento de *P. vulgaris*, es el control de insectos-plaga que dañan la raíz, con lo que evitan la acción benéfica de *Rhizobium phaseoli*<sup>3</sup>, primero para ejercer la infectividad o formación de nódulos y la efectividad o la capacidad de *R. phaseoli* para suplir adecuadamente la demanda de nitrógeno (N) para un sano crecimiento. En consecuencia, se aplican plaguicidas que en lo general inhiben o aniquilan a *R. phaseoli*, sin embargo, la información al respecto es contradictoria, pues se reporta que el crecimiento de *R. phaseoli* se inhibe con mínimas concentraciones de dicloro difenil tricloroetano (DDT) y folidol, siendo incluso menores a los que se recomiendan en el campo en el control de insectos-plaga de raíces de *P. vulgaris*. Mientras que otros señalan que *Rhizobium* spp., puede ser tolerantes a plaguicidas sin perder la capacidad infectiva y efectiva<sup>4,5</sup>. Así se ha reportado que la nodulación en el sistema radical de *P. vulgaris* por *R. phaseoli* se anula o reduce a causa de la toxicidad de estos plaguicidas<sup>6,7</sup>, lo que disminuye la efectividad o efecto positivo para el sano crecimiento de *P. vulgaris*, en principio porque inactivan la nitrogenasa para fijar nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>) o FBN<sup>8,9</sup>. Con base en lo anterior los objetivos de este trabajo fueron seleccionar y analizar *R.*

*phaseoli* tolerante a diazinón para el sano crecimiento de *P. vulgaris*.

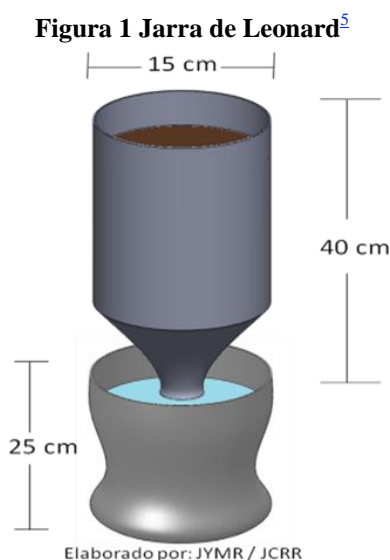
## Materiales y métodos

*Origen de las cepas de R. phaseoli.* Se recuperaron de las raíces de *Phaseolus* var Bayo, en agar extracto de levadura manitol rojo Congo (AELMRC) con la siguiente composición (g/L): K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5, M<sub>g</sub>SO<sub>4</sub> 0.2, NaCl 0.1, manitol 1.0, extracto de levadura 1.0, rojo Congo 10.0 mL/L (de una solución 1:500), agar-agar 20.0 g, agua destilada 1000.0 mL, pH 7.0 de acuerdo con Vincent<sup>10</sup>, colectados del campo agrícola experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Aldama, Tamaulipas, México, se designaron con las claves: ReD, ReDa y ReD1, hoy son parte de la colección del laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (IIQB)-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH)<sup>1,10</sup>.

*Selección de R. phaseoli tolerante a diazinón.* En este ensayo se probaron plaguicidas de frecuente aplicación en Aldama Tamaulipas, México, como: el diazinón (O,O-dietil O-2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il fosforotioato) - Servin (1-naphthyl N-methyl carbamate), c/pesticida se agregó al AELMRC en concentración de: 250, 300, 500 y 100 ppm, para lo cual en un matraz nefelométrico, se inoculo 1.0 mL equivalente a 1 x 10<sup>6</sup> UFC/mL de *R. phaseoli* por 100 mL de caldo extracto levadura manitol (CELM) más el diazinón o el Servin en concentración de: 200, 300, 400 y 1000 ppm, estos matraces se incubaron por 24 a 36 h en agitación/200 rpm, para la adaptación y selección de *R. phaseoli* a la concentración creciente de diazinón y Servin. La adaptación de *R. phaseoli* al incremento

de la concentración de cada plaguicida se logró al detectar el crecimiento esperado con ese aumento, comparado con el crecimiento normal de *R. phaseoli* en el matraz nefelométrico en CELM sin el diazinón o el Servin en las mismas condiciones de incubación, temperatura y tiempo<sup>4</sup>.

*Prueba de infectividad y efectividad de R. phaseoli resistente a diazinón en P. vulgaris.* Seleccionadas las cepas de *R. phaseoli* tolerantes a diazinón, (puesto que el Servin inhibió el crecimiento de *R. phaseoli* desde la primera concentración por lo que ya no se usó).



Por lo que entonces las semillas de *P. vulgaris* var Bayo (donadas por la Secretaria de Agricultura Ganadería Pesca Desarrollo Rural y Alimentación del gobierno de México) se inocularon con el *R. phaseoli* resistente a diazinón en las jarras de Leonard (figura 1) ahí el suelo se colocó en la parte superior de la jarra de Leonard y la solución mineral o el agua en la parte inferior de la jarra, ambas partes se conectaron con una tira de algodón de 20 cm de largo, para movimiento del líquido por capilaridad<sup>5</sup>, el suelo donde se le sembró el *P. vulgaris* tenía las siguientes propiedades fisicoquímicas: fue un laterítico con pH 6.64, textura arcilla 40.56 %, arena 0.76

%, limo 37.8 %, capacidad de campo 30.08 %, humedad materia orgánica 4.57 %, pobre en nitrógeno total 0.1 %, capacidad de campo 30.08 %, y capacidad de intercambio catiónico de 4.61 mg/100 g. Este suelo se tamizó con malla de No. 20 se solarizó 48 h a 70 °C, para evitar plagas y enfermedades, las jarras de Leonard se colocaron en el invernadero bajo las siguientes condiciones micro climáticas promedio fueron: la temperatura de 23.2 °C, con una luminosidad de 450  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  y una humedad relativa de 67 %. *P. vulgare* con *R. phaseoli* se alimentó con una solución mineral con la siguiente composición química: 1 molar de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$ , trazas de  $\text{FeSO}_4$ , 1.0 mL de solución de elementos menores en 1000 mL de agua destilada ajustada a pH 7 que se pasteurizó (90 °C/10 min). Posteriormente 45 días después se evaluó el efecto de las cepas de *R. phaseoli* tolerante a diazinón en *P. vulgaris* mediante las siguientes variables-respuesta, la altura de la planta (AP), diámetro de la hoja (DH) (cm), así como el peso seco del follaje (PSF), número de nódulos efectivos en la raíz el peso seco y el peso seco de la raíz<sup>10</sup>.

*Evidencia de que R. phaseoli degradó (coometabolismo) el diazinón en medio de cultivo.* Las cepas de *R. phaseoli* tolerantes a diazinón se inocularon en un matraz nefelométrico, con caldo extracto levadura manitol rojo Congo (CELMRC) con diazinón, los matraces se agitaron por 300 rpm hasta la fase estacionaria, mediante una cuenta viable que se alcanzó a las 30 h de incubación de acuerdo a la curva de crecimiento de *R. phaseoli*, en comparación con el mismo *R. phaseoli* en CELMRC sin diazinón. Con este ensayo se evidenció el coometabolismo de *R.*

*phaseoli* para degradar el diazinón en combinación con el manitol usado como fuente de carbono [4.11-13](#).

## Resultados

**Tabla 1 Efecto de *Rhizobium phaseoli* tolerante a diazinón en el crecimiento de *Phaseolus vulgaris*, var Bayo**

Cepa	ReD	ReDa	ReD1
No. de nódulo efectivos (rojos)/planta <sup>1</sup>	19 <sup>a*</sup>	20 <sup>c</sup>	39 <sup>a</sup>
Color de hojas	verde intenso	verde	verde intenso

<sup>1</sup>n=20 \*letras iguales sin diferencia estadística según Tukey (p<0.05).

En la tabla 1 se muestra el efecto de las cepas de *R. phaseoli* tolerantes a diazinón en el crecimiento de *P. vulgaris* en función del número de nódulos efectivos que determinan una condición de salud vegetal con 19, 20, 39 generados respectivamente por las cepas de *R. phaseoli* resistentes a diazinón denominadas ReD, ReDa y ReD1. En relación al color de

las hojas de *P. vulgaris* fueron indicadoras de que las cepas infectaron las raíces de *P. vulgaris* con nódulos de color rojo (efectivos), lo que indica la presencia de leghemoglobina asociada con la capacidad de fijar N<sub>2</sub> y el color verde e intenso en las hojas<sup>1</sup>.

**Tabla 2 Comparación de la infectividad y efectividad de *Rhizobium phaseoli* silvestre y *R. phaseoli* tolerante a diazinón en el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* var Bayo**

<sup>1</sup> Parámetros de la estabilidad de infectividad y efectividad	<i>R. phaseoli</i> silvestre			<i>R. phaseoli</i> tolerante a diazinón		
	ReD	ReD1	ReDa	ReD	ReD1	ReDa
Díámetro de la hoja (cm)	3.7 <sup>a*</sup>	3.9 <sup>a</sup>	3.5 <sup>a</sup>	3.2 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>
Altura de la planta (cm)	23 <sup>b</sup>	29 <sup>a</sup>	22 <sup>b</sup>	19.1 <sup>c</sup>	24.9 <sup>b</sup>	18.0 <sup>c</sup>
Peso seco del follaje (g)	5.0 <sup>a</sup>	3.9 <sup>b</sup>	4.0 <sup>b</sup>	4.9 <sup>a</sup>	3.6 <sup>b</sup>	3.9 <sup>b</sup>
Peso seco de nódulos efectivos (mg)	490 <sup>b</sup>	498 <sup>a</sup>	130 <sup>c</sup>	488 <sup>b</sup>	509 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup>
Numero de nódulos efectivos (rojos)/planta	25 <sup>b</sup>	29 <sup>a</sup>	22 <sup>b</sup>	21.0 <sup>b</sup>	27.0 <sup>a</sup>	19.0 <sup>b</sup>
Peso seco de la raíz con nódulos (g)	3.2 <sup>a</sup>	3.8 <sup>b</sup>	4.9 <sup>a</sup>	4.0 <sup>b</sup>	3.5 <sup>b</sup>	4.2 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>n=20 \*Letras iguales sin diferencia estadística significativa (0<0.5) según Tukey.

En la tabla 2, donde de acuerdo a la literatura se observó que las cepas de *R. phaseoli* de ReD, ReDa y ReD1 tolerantes a diazinón tuvieron un efecto positivo en el DH, la AP de *P. vulgaris* con 19.1, 24.9, 18 cm, así como en el PSF, estos valores numéricos fueron, estadísticamente diferentes en comparación con las cepas de *R. phaseoli* silvestres u originales incapaces de crecer en presencia del diazinón. Al igual que las cepas *P. phaseoli* tolerantes a diazinón en el número de nódulos efectivos rojos, el peso seco que incluyo el de la raíz completa, sin diferencia estadística comparado con los valores numéricos análogos registrados en *P. vulgaris* con

*P. phaseoli* silvestre u original no tolerantes al diazinón.

En la tabla 3 se muestra que las cepas de *R. phaseoli* crecidas en AELMRC con diazinón generaron un número de unidades formadoras de colonias (UFC) con un valor numérico estadísticamente diferente comparado con las cepas de *R. phaseoli* silvestre (originales) en AELMRC sin diazinón, lo que indica que las cepas sometidas a la máxima concentración de diazinón se adaptaron fisiológicamente, al insecticida, aunque hubo una reducción en el UFC *R. phaseoli*, puesto que se trata de una selección natural lo que causó la muerte de las células de *R. phaseoli* que susceptibles a la toxicidad del diazinón<sup>4</sup>.

En la tabla 4 se muestra el crecimiento como UFC, registrado en las cepas de *R. phaseoli* tolerantes a diazinón, la literatura señala que puede ser por una acción de coometabolismo cuando usan el manitol para la degradación del diazinón, en esta tabla fue evidente que cuando *R. phaseoli* creció en manitol y diazinón se registró un decremento de la cantidad de colonias como UFC, porque aunque *R. phaseoli* lo degradan fue toxico para una parte de la población total de *R. phaseoli*, en comparación cuando creció

en el AELMRC sin diazinón, que representa la cantidad del crecimiento en UFC esperado, mientras que al suprimir el manitol como el diazinón, la ausencia de ambas causo un drástico disminución de la población de *R. phaseoli*, porque los otros componente del AELMRC: como el extracto de levadura y rojo Congo fueron insuficientes para que *R. phaseoli*, pudiese reproducirse al nivel que registró cuando el medio de cultivo contenía el manitol como única fuente de carbono y energía<sup>1</sup>.

**Tabla 3 Comparación de la estabilidad de la resistencia de mutantes de *Rhizobium phaseoli* a diazinón en relación con *Rhizobium phaseoli* silvestre**

Aislado	*AELMRC con diazinón <sup>1</sup> *UFCx10 <sup>2</sup>	AELMRC sin diazinón UFCx10 <sup>2</sup>
ReD	26 <sup>c**</sup>	44 <sup>b</sup>
ReD1	30 <sup>c</sup>	49 <sup>b</sup>
ReDa	40 <sup>b</sup>	61 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>promedio de 4 repeticiones en las UFC=Unidades formadoras de colonias x10<sup>2</sup>/mL

\*AELMRC=Agar extracto levadura manitol rojo Congo. \*\*Letras iguales sin diferencia significativa (<0.05) según Tukey.

**Tabla 4 Coometabolismo de diazinón por cepas de *Rhizobium phaseoli* tolerantes al insecticida en comparación con el crecimiento sin el insecticida**

Cepas	<sup>2</sup> Agar extracto levadura rojo Congo sin diazinón <sup>1</sup> UFCx10 <sup>2</sup>	Agar extracto levadura manitol rojo Congo con diazinón UFCx10 <sup>2</sup>	Agar extracto levadura rojo Congo sin manitol ni diazinón UFCx10 <sup>2</sup>
ReD	39 <sup>*c</sup>	15. <sup>d</sup>	0.1 <sup>c</sup>
ReD1	50 <sup>b</sup>	23 <sup>c</sup>	0.9 <sup>e</sup>
ReDa	60 <sup>a</sup>	31 <sup>c</sup>	0.7 <sup>e</sup>

<sup>1</sup>UFC (Unidades formadoras de colonias/mL). \*Letras iguales sin diferencia estadística significativa (<0.05) Según Tukey.

<sup>2</sup>AELMRC=agar extracto levadura manitol rojo Congo.

## Discusión

En la tabla 1 se muestra que se observó una respuesta positiva de *P. vulgaris* con base en el número de nódulos efectivos, que apoyan que *R. phaseoli* tolerantes a diazinón conservaron los plásmidos que contienen la infectividad y efectividad en las raíces de *P. vulgaris*, para un sano crecimiento, porque en el suelo había insuficiente nitrógeno mineral para el crecimiento de *P. vulgaris*<sup>1,5,6,12</sup>.

En la tabla 2, se muestra que las cepas de *R. phaseoli* tolerantes a diazinón conservaron los plásmidos responsables de la nodulación o infectividad, que eran de color rojo lo que indico la presencia de le-

ghe-moglobina, proteína relacionada con la capacidad de fijar N<sub>2</sub> (efectividad), en consecuencia *P. vulgaris* sintetizo suficiente clorofila, para el color verde intenso de las hojas un característica fenológica de un sano crecimiento cuando *P. vulgaris* esta simbiosis con cepas de *R. phaseoli* que sean infectivas y efectivas<sup>7,10,13</sup>.

Tabla 3 se presenta la evidencia de que el crecimiento de *R. phaseoli* en agar extracto levadura manitol (AELM) con diazinón con base en las UFC, fue el resultado de una selección natural de la adaptación fisiológica al diazinón, sin el riesgo de perder la capacidad de crecer en presencia del diazinón, el

valor de numérico de las UFC, se redujo en relación con la misma variable de UFC, de las cepas silvestres de *R. phaseoli*, pues durante la de selección una parte de esta población susceptible al diazinón murió, por el ello el número de UFC de *R. phaseoli* tolerante al diazinón fue menor<sup>14-16</sup>. Al igual que se ha reportado para otros géneros especies de la familia *Rhizobiaceae* como *Bradyrhizobium* spp, que también coometabolizan y/o mineralizan otros plaguicidas aplicados, en la agricultura convencional en el control de insectos-plaga que atacan las raíces de leguminosas<sup>15,16</sup>. La capacidad para degradar insecticidas similares al diazinón, es una propiedad bioquímica común en la naturaleza según los reportado para otros grupos bacterianos distintos a *R. phaseoli* como: *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Thermoactinomyces*, *Nocardia* y *Mycobacterium*<sup>4,12,13</sup> al igual que géneros y especies de hongos del suelo, y/o de aquellos viven en asociación con las raíces vegetales del tipo: *Aspergillus fumigatus*, *Cunninghamella elegans*<sup>17</sup>, *Penicillium citreonigrum*<sup>18</sup>. *Rhizopus nodosus*, incluye a las enterobacterias patógenas humanas: *Escherichia coli*, *Salmonella bongori* que son capaces de mineralizan el diazinón, lo anterior apoya esto se debe a que tanto eucariotas con procariontas, tienen esta propiedad genética de resistencia a diazinón, porque tienen relación con las actividades humanas de manejo de plantas y aguas que son parte de la agricultura<sup>19-21</sup>.

Tabla 4 se muestra la tolerancia de *R. phaseoli* al diazinón fue el resultado de la capacidad de adaptación fisiológica de este género y especie, que además tiene en el genoma codificada la utilización de compuestos de carbono similares al diazinón, por lo que si existe otra fuente de carbono sencilla que al oxidarse facilite la degradación del plaguicida, una

acción bioquímica conocida como coometabolismo. Lo que se demostró cuando *R. phaseoli* tolerante al diazinón creció en el AELM y el diazinón, en comparación con la inhibición del crecimiento de *R. phaseoli* en AEL sin manitol ni diazinón<sup>4,8,11,14</sup>. La selección de cepas de *R. phaseoli* resistentes a plaguicidas útiles en la agricultura convencional, se reporta en cepas *Bradyrhizobium japonicum* para el cultivo de *Glycine max* para evitar el ataque de insectos plaga<sup>15,22,23</sup>. Por ello *R. phaseoli* se recomienda en zonas agrícolas donde *P. vulgaris* tiene problema con los insectos-plagas que destruyen la raíz y limitan el sano crecimiento, en especial porque el diazinón se emplea durante el cultivo de *P. vulgaris* en dosis similares a las evaluadas en esta investigación<sup>12</sup>, puesto que el diazinón se aplica en las fases iniciales de crecimiento de *P. vulgaris* sin evidencia de que persista en las vainas y/o semillas de *P. vulgaris*<sup>14</sup>. Con base a lo anterior se concluye que es posible obtener cepas de *R. phaseoli* tolerantes a diazinón altamente infectivas y efectivas para un sano crecimiento de *P. vulgaris* sin riesgo de pérdidas provocadas por insectos plaga que atacan el sistema radical.

### Fuente de financiamiento y agradecimientos

Al Proyecto 2.7 (2021) de la CIC-UMSNH, BIONUTRA SA de CV de Maravatío, Michoacán, México, a Jeanneth Caicedo Rengifo en la escritura, a: EDI, COFAA- IPN y SNI por el apoyo.

### Conflictos de intereses

Los autores de este artículo, declaramos que no existe ningún conflicto de interés en la planificación, ejecución y redacción de la investigación rea-

lizada, como tampoco con aquellas personas e instituciones que la financiaron.

### Consideraciones éticas

La aprobación de la investigación por el Comité de Ética de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México siguió las pautas establecidas por ese comité.

### Aporte de los autores en el artículo

*Santoyo Pizano Gustavo*, planeación del experimento y análisis estadístico de todos los resultados. *Hernández Mendoza José Luis*, actualización de la literatura y revisión parcial de literatura para los resultados experimentales. *Márquez-Benavides Lilliana*, análisis de resultados y crítica de la discusión de resultados. *De Luna-Esquivel Gustavo*, apoyo para el diseño experimental y ejecución de experimentos con *Phaseolus vulgaris* y *Rhizobium phaseoli*. *Sánchez-Yáñez Juan Manuel*, Planeación, dirección de los experimentos, análisis integral de resultados, redacción del artículo, responsable del apoyo financiero de la investigación.

### Literatura citada

1. Villegas MJ, Farias Rodriguez R, Sánchez Yáñez JM. Inoculación de leguminosas con *Rhizobium*: mini revisión [Internet]. Morelia: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; 2005 [citado 22 de mayo de 2020]. 12 p. Recuperado a partir de: [file:///C:/Users/usuario/Downloads/InoculaciondeleguminosasconRhizobium2005TopicosSelectosMicrobiologia%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/usuario/Downloads/InoculaciondeleguminosasconRhizobium2005TopicosSelectosMicrobiologia%20(1).pdf)
2. Programa especial concurrente para el desarrollo rural sustentable (PEC) para el ejercicio 2020 [Internet]. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. 2020 [citado 5 de agosto de 2020]. Recuperado a partir de: [http://www.cedrssa.gob.mx/post\\_programa\\_especial\\_concurrente\\_para\\_el\\_desarrollo\\_rural\\_sustentable\\_-\\_n-pec\\_-\\_para\\_el\\_ejercicio\\_2020\\_n.htm](http://www.cedrssa.gob.mx/post_programa_especial_concurrente_para_el_desarrollo_rural_sustentable_-_n-pec_-_para_el_ejercicio_2020_n.htm)
3. Hussain S, Siddique T, Saleem M, Arshad M, Khalid A. Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. *Adv Agron* 2009;102:159-200. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(09\)01005-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(09)01005-0)
4. Singh G, Wright D. In vitro studies on the effects of herbicides on the growth of rhizobia. *Lett Appl Microbiol* 2002;35(1):12-6. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2002.01117.x>
5. Romero García VE, García Ortiz VR, Hernández Escareño JJ, Sánchez Yáñez JM. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a microorganismos promotores de crecimiento vegetal. *Scientia Agropecuaria* 2016;7(3):313-9. DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.20>
6. Alexander M. Biochemical ecology of microorganisms. *Annu Rev Microbiol* 1971;25:361-92. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.25.100171.002045>
7. Alexander M. Introducción a la microbiología del suelo. Mexico: AGT Editores; 1977. p. 463-481.
8. Somerville L. Perspectives on side-effect testing. In: Somerville L, Greaves MP, editors. *Pesticide effects on soil microflora*. London: Taylor and Francis; 1987. p. 240.
9. Ingram CW, Coyne MS, Williams DW. Effects of commercial diazinon and imidacloprid on microbial urease activity in soil and sod. *J Environ Qual* 2005;34(5):1573-80. DOI: <https://doi.org/10.2134/jeq2004.0433>
10. Vincent JM. Manual práctico de rizobiología. Buenos Aires: Hemisferio Sur; 1975. p. 10-50.
11. Lal R, Saxena DM., Accumulation metabolism and effects of organochlorine insecticides on mi-

- croorganisms. *Microbiol Rev* 1982;46(1):95-127. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.46.1.95-127.1982>
12. Das AC, Mukherjee D. Soil application of insecticides influences microorganisms and plant nutrients. *Appl Soil Ecol* 2000;14(1):55-62. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(99\)00042-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(99)00042-6)
13. Kantachote D, Naidu R, Singleton I, McClure N, Harch BD. Resistance of microbial populations in DDT-contaminated and uncontaminated soils. *Appl Soil Ecol* 2001;16(1):85-90. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00058-5](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00058-5)
14. Smith MD, Hartnett DC, Rice CW. Effects of long-term fungicide applications on microbial properties in tallgrass prairie soil. *Soil Biol Biochem* 2000;32(7):935-46. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00223-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00223-0)
15. Santos JB, Ferreira EA, Kasuya MCM, Silva AA, Procópio SO. Tolerance of *Bradyrhizobium* strains to glyphosate formulations. *Crop Prot* 2005;24(6):543-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.10.007>
16. Drufovka K, Danevčič T, Trebše P, Stopar D. Microorganisms trigger chemical degradation of diazinon. *Int Biodeterior Biodegradation* 2008;62(3):293-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.02.003>
17. Zhao M, Gu H, Zhang CJ, Jeong IH, Kim JH, Zhu YZ. Metabolism of insecticide diazinon by *Cunninghamella elegans* ATCC36112. *RSC Adv* 2020;10:19659. DOI: <https://doi.org/10.1039/d0ra02253e>
18. Jahin HS, Gaber SE, Hussain M. Bioremediation of diazinon pesticide from aqueous solution by fungal-strains isolated from wastewater. *World J Chem* 2020;15(1):15-23. DOI: <https://doi.org/10.5829/idosi.wjc.2020.15.23>
19. Hassan MA, El Mubarak A, Assad YH. Effectiveness evaluation of bacterial species isolated from soil in bioremediation of diazinon, pirimicarb and atrazine pesticides. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2020;9(3):914-21. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.903.107>
20. Eom IC, Rast C, Veber AM, Vasseur P. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. *Ecotoxicol Environ Saf* 2007;67(2):190-205. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.12.020>
21. Altieri M, Rosset PM. Prólogo. En: Pérez Consuegra N, editor. Manejo ecológico de plagas [Internet]. La Habana: Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural; 2004. p. 5-6. Recuperado a partir de: <https://www.fcnym.unlp.edu.ar/catedras/ecoplagas/Bibliografia.pdf>
22. Braga R, Labrada R, Fornasari L, Fratini N. Manual para la capacitación de trabajadores de extensión y agricultores - alternativas al Bromuro de Metilo para la fumigación de los suelos [Internet]. Roma: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente-Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; 2003 [citado 22 de mayo de 2020]. 74-87 p. Recuperado a partir de: <http://www.fao.org/3/Y1806S/Y1806S00.htm>
23. Kaack H. Tomato es in Morocco: IPM and grafted plants. In: Batchelor T, editor. Case studies on alternatives to Methyl Bromide technologies with low environmental impact [Internet]. Paris: United Nations Environment Programme Division of Technology, Industry and Economics; 2000. p. 14-17. Recuperado a partir de: <http://hdl.handle.net/20.500.11822/8331>

**Nota del Editor:**  
Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales.