

# Efecto de diferentes plaguicidas sobre el crecimiento de *Azotobacter chroococcum*

## Different pesticides' effect on *Azotobacter chroococcum* growth

Diego Rivera<sup>1</sup>, Mauricio Camelo<sup>2</sup>, Germán Estrada<sup>3</sup>, Melissa Obando<sup>4</sup>, Ruth Bonilla<sup>5</sup>

---

### Resumen

Se evaluó el efecto de diferentes agroquímicos cuyos principios activos se basan en Carboxin: 5,6-dihidro-2-metil-N-fenil-1,4-oxathiin-3 carboxamida; Tiram: tetramethylthioperoxydicarbonic diamide; Imidacloprid: (1-(6-cloro6-4-piridinil-metil)-N-nitroimidazolidin-2-ilideneamina); Cipermetrina: (1RS)-cis,trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato de (RS)-ciano-3-Fenoxibencilo; S-metolachloro: (S)-2-cloro-N-(2-etil-6-metil-fenil)-N-(2-metoxi-1-metil-etil)-acetamida; Fluometuron: 1,1-dimetil-3(alfa, alfa, alfa-trifluoro-m-tolil) urea y Glifosato: (N-(fosfonometil) glicina) sobre la viabilidad del inoculante biológico Monibac® - Corpoica cuyo ingrediente activo es la bacteria diazotrófica no simbiótica *Azotobacter chroococcum* AC1, aplicando las técnicas de concentración mínima inhibitoria y de compatibilidad. Los resultados demostraron la susceptibilidad del microorganismo frente al insecticida cipermetrina al 50% y al ser mezclado con los demás plaguicidas en la dosis utilizada regularmente en campo. Se encontró que no hubo efectos significativos ( $P < 0,05$ ) en la aplicación de los plaguicidas (Carboxin, Thiram, Imidacloprid, S-metolachloro, Fluometuron y Glifosato) sobre *A. chroococcum* AC1, bajo las diferentes dosis evaluadas infiriendo que esta bacteria en condiciones de laboratorio es capaz de tolerar estas sustancias químicas mediante diferentes mecanismos fisiológicos sin afectar su crecimiento.

**Palabras clave:** *Azotobacter chroococcum*, agroquímicos, biofertilizante, inhibición.

### Abstract

Minimum inhibitory concentration and compatibility techniques were used for evaluating the effect of agrochemicals whose active ingredients are based on carboxin (5,6-dihydro-2-methyl-N-phenyl-1,4-oxathiin-3carboxamide), tiram (tetramethylthioperoxydicarbonic diamide), imidacloprid (1-(6-cloro6-4-pyridinyl-methyl)-N-nitroimidazolidin-2-ilideneamina), cypermethrin ((1RS)-cis, trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate (RS)-cyano-3-phenoxybenzyl), S-metolachlor ((S)-2-chloro-N-(2-ethyl-6-methyl-phenyl)-N-(2-methoxy-1-methyl-ethyl)-acetamide), fluometuron (1,1-dimethyl-3

- 
- 1 Ingeniero de Producción Biotecnológico. Investigador Laboratorio Microbiología de Suelos, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica. [drivera@corpoica.org.co](mailto:drivera@corpoica.org.co)
  - 2 Microbiólogo Industrial. Investigador Laboratorio Microbiología de Suelos, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica. [mcamelos@corpoica.org.co](mailto:mcamelos@corpoica.org.co)
  - 3 Microbiólogo Industrial. Investigador Embrapa Agrobiología-Brasil. [adiablillo@hotmail.com](mailto:adiablillo@hotmail.com)
  - 4 Ingeniera de Producción Biotecnológica. Investigadora Laboratorio Microbiología de Suelos, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica. [dobando@corpoica.org.co](mailto:dobando@corpoica.org.co)
  - 5 Ph.D. Ciencias Agrícolas. Líder Laboratorio Microbiología de Suelos, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica. [rbonilla@corpoica.org.co](mailto:rbonilla@corpoica.org.co)

(alpha, alpha, alpha-trifluoro-m-tolyl)) urea and glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine)) on the viability of Monibac (a biological inoculant/biofertiliser produced by CORPOICA, Colombia) whose active ingredient is based on *Azotobacter chroococcum* AC1 (a non-symbiotic diazotrophic bacteria). The results demonstrated the susceptibility of the organism to 50% cypermethryn when it was mixed with other pesticides in the ratio regularly used in the field. It was found that the pesticides (carboxin, thiram, imidacloprid, S-metolachlor, fluometuron and glyphosate) had no significant effects ( $P < 0.05$ ) at the different concentrations tested, suggesting that this bacterium is able to tolerate these chemicals by using different physiological mechanisms without affecting plant growth in the laboratory.

**Key words:** *Azotobacter chroococcum*, agrochemical, bacteria, biofertiliser, inhibition.

Recibido: septiembre 20 de 2009    Aprobado: junio 11 de 2010

## Introducción

La utilización de agroquímicos en los sistemas de producción intensivos tiene una clara acción sobre la microbiota del suelo, afectando directamente las numerosas poblaciones de microorganismos nativos de interés biológico expuestas a este tipo de sustancias. Como consecuencia de la retención de ciertos plaguicidas en las partículas del suelo, microorganismos benéficos, como muchas bacterias presentes en la mayoría de los sistemas agrícolas, pueden sufrir alteraciones bioquímicas, disminuyendo su actividad como biofertilizantes y su efecto promotor del crecimiento de las plantas (Paolletti, 1999).

Dentro de los diferentes plaguicidas empleados en el cultivo de algodón se encuentran los fungicidas, cuyos principios activos se basan en: (5,6-dihidro-2-metil-N-fenil-1,4-oxathiin-3 carboxamide y tetramethylthio-peroxydicarbonic diamide), los insecticidas: [(1-(6-cloro-4-piridinil-metil)-N-nitroimidazolidin-2-ilideneamina) y (1RS)-cis,trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2 dimetilciclopropano carboxilato de (RS)-ciano-3-Fenoxibencilo], y los herbicidas: (S)-2-cloro-N-(2-etil-6-metil-fenil)-N-(2-metoxi-1-metil-etil)-acetamida; 1,1-dimetil-3(alfa, alfa, alfa-trifluoro-m-tolil)urea y (N-(fosfonometil) glicina); siendo estos agroquímicos los que permiten eliminar, controlar y manejar diferentes plagas y malezas en este cultivo de importancia económica en Colombia. La actividad del pla-

guicida sobre la especie objetivo no es considerada un problema, debido a que en ésta se basa su eficacia y la razón de su utilización; sin embargo, los problemas derivan de la falta de selectividad debido a que en la liberación de estas sustancias la toxicidad se puede extender a otras especies no objetivo. Este posible efecto no intencional sobre otros organismos obliga a realizar valoraciones a modo de minimizar su impacto sobre estos organismos y los diferentes cambios ambientales ocasionados por su constante e indiscriminada utilización en el suelo.

Entre los grupos microbianos reportados como organismos degradadores de plaguicidas, muchas de las bacterias heterótrofas señaladas los utilizan como sustratos, ya sea metabolizando las moléculas o usándolas como nutriente y fuente de energía. Se incluyen en este grupo bacterias como: *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., *Flavobacterium* sp., entre otros (Madigan *et al.*, 2004).

El papel de las bacterias en la biodegradación y transformación de los plaguicidas en el suelo es variable y depende de la disponibilidad, movilidad y toxicidad del plaguicida, las propiedades fisicoquímicas del suelo y del plaguicida, entre otros factores medioambientales (Racke, 1990).

Dentro de las bacterias diazotróficas, el género *Azotobacter* es uno de los más estudiados en la agricultura gracias a su alta capacidad de biodegradación, especialmente para la oxidación de compuestos fenólicos sustituidos (González y Lluch, 1992); este hecho resulta de especial interés debido a que estas bacterias aumentan su actividad biológica en suelos agrícolas adicionados de residuos que poseen un alto contenido en sustancias fenólicas, pudiéndose sugerir que estos microorganismos pueden contribuir a la biotransformación de este tipo de residuos cuando se usen como fertilizantes. En este contexto, estos diazótrofos son considerados por algunos investigadores como bacterias ciertamente ideales para los procesos de descontaminación de suelos agrícolas con sustancias xenobióticas (González y Lluch, 1992).

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar, en condiciones de laboratorio, el grado de tolerancia de la bacteria *Azotobacter chroococcum* AC1, a la aplicación de diferentes agroquímicos empleados en el cultivo de algodón.

## Materiales y métodos

**Cepa de estudio.** Se empleó la cepa *A. chroococcum* AC1, proveniente del Banco de microorganismos del Laboratorio de Microbiología de Suelos (CBB-Corpoica C.I. Tibaitatá), la cual fue aislada de cultivos de algodón, en la Estación Experimental Motilonia, Codazzi-Cesar (Bonilla y Morales, 2005).

**Reactivación del inóculo.** La cepa de *A. chroococcum* AC1, se reactivó en placas de medio de cultivo agrícola ( $\text{g L}^{-1}$ ):  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 2,4;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1; Glucosa, 5;  $\text{CaCl}_2$ , 0,1; Extracto de Levadura, 5;  $\text{MnSO}_4$ , 0,1;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 4; pH: 7,2), mediante siembra por agotamiento. Se incubaron a  $30 \pm 2^\circ \text{C}$  durante 48 horas, realizando tinción de Gram para confirmar la pureza de la cepa.

**Estandarización del inóculo.** Se realizó una suspensión celular al 10% en solución salina ( $\text{NaCl}$  0,85%) de la cepa AC1 ajustada

al tubo N° 5 de la escala de Mc. Farland; esta suspensión fue agregada al caldo agrícola y se incubó durante 48 h a  $30 \pm 2^\circ \text{C}$  y 120 rpm. Posteriormente, se determinaron las unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL) de inóculo empleando diluciones seriadas desde  $10^{-2}$  hasta  $10^{-8}$  y recuento en placa por la técnica de microgota (Doyle *et al.*, 2000) después de 48 h de incubación a  $30 \pm 2^\circ \text{C}$ .

### Determinación de la viabilidad celular.

La concentración celular (UFC/mL) fue determinada por medio de la técnica de recuento en placa sobre medio agrícola, realizando diluciones seriadas en base diez desde  $10^{-2}$  hasta  $10^{-8}$ . El tiempo de incubación fue de 48 h.

**Determinación de la concentración mínima inhibitoria de Carboxin, Thiram, Imidacloprid, Cipermetrina, S-metolachloro, Fluometuron y Glifosato.** Se utilizó la técnica de difusión en agar, colocando la concentración comercial aplicada en campo de cada uno de los plaguicidas y la mezcla de todos; además, se evaluó una concentración inferior y superior de la normalmente utilizada mediante el uso de pozos sobre el medio de cultivo agrícola, y se empleó agua destilada estéril como control (Durán, 1996). Así mismo, se evaluó la formación de zonas de aclaramiento alrededor de los pitillos para analizar cualitativa y cuantitativamente los halos de inhibición sobre el crecimiento de la cepa de *A. chroococcum* AC1. Los experimentos fueron realizados por triplicado.

**Compatibilidad de los plaguicidas con el medio Agrícola.** Para esta prueba se combinaron diferentes concentraciones (baja-media-alta) de los plaguicidas individualmente y la mezcla de todos (tabla 1); posteriormente, se realizó la inoculación con la cepa de *A. chroococcum* AC1, multiplicada en medio agrícola; se tuvo en cuenta la solubilidad de los plaguicidas para realizar una óptima difusión acatando en el proceso las recomendaciones impartidas por cada casa comercial de los agroquímicos. Con el fin de determinar las células viables después de 0 h y 12 h de incubación a  $30 \pm 2^\circ \text{C}$ , se reali-

zó el recuento en placa de UFC/mL del inóculo empleando diluciones seriadas desde  $10^{-2}$  hasta  $10^{-8}$  y recuento en placa por la técnica de mi-

crogota (Doyle *et al.*, 2000). Los experimentos fueron realizados por triplicado.

**Tabla 1.** Niveles evaluados de concentración de los plaguicidas empleados en las pruebas de compatibilidad con el medio agrícola

Plaguicidas			Concentraciones (Niveles)		
Ingredientes activos	Categoría	Dosis comercial de aplicación	Bajo (%)	* Medio (%)	Alto (%)
Carboxim y Thiram	Fungicida 1	200 g/100 kg Semilla/LH20	10	20	30
Carboxim y Thiram	Fungicida 2	100 cm <sup>3</sup> /100 kg Semilla/L H20	5	10	15
Imidacloprid	Insecticida	0,2 L/100 kg Semilla/L H20	10	20	30
Cipermetrina	Insecticida	0,5 L/100 kg Semilla/L H20	40	50	60
S-metolachloro	Herbicida	1,5 L/ha/200 L H20	0,5	0,75	1
Fluometuron	Herbicida	2,0 L/ha/200 L H20	0,50	1	1,50
Glifosato	Herbicida	4 L/ha/400 L H20	0,50	1	1,50
Mezcla (fungicida+insecticida+herbicida)			Concentración comercial aplicada en campo de los plaguicidas en Colombia.		

\* Concentración de los distintos plaguicidas en su aplicación estándar en campo.

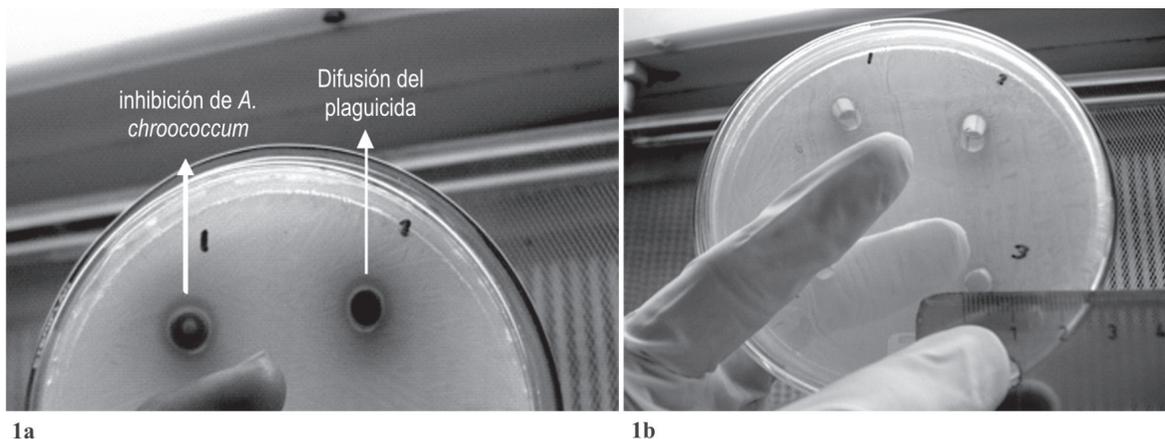
**Análisis estadístico.** Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y comparación de medias por el Test de Duncan al 5% de probabilidad usando el paquete estadístico SPSS, Versión 17.

## Resultados y discusión

Determinación de la concentración mínima inhibitoria de Carboxin, Thiram, Imidacloprid, Cipermetrina, S-metolachloro, Fluometuron y Glifosato (recomendaciones impartidas por cada empresa que comercializa los agroquímicos). Al emplear los dos fungicidas con principios activos basados principalmente en dos compuestos como Carboxim y Thiram bajo una concentración de 10%, 20% y 30% y de 5%, 10% y 15% respectivamente, se observó la formación de pequeños halos de

inhibición (zonas de aclaramiento) alrededor de la bacteria *A. chroococcum* AC1, inoculada en los pozos del medio de cultivo, lo cual manifiesta de forma cualitativa el efecto causado por estos tipos de fungicidas sobre la viabilidad del microorganismo; sin embargo, este resultado no representa un valor estadísticamente significativo debido a que el halo de inhibición no presentó un campo de influencia representativo en las distintas dosis utilizadas que pudieran haber afectado la multiplicación del microorganismo (figura 1).

Los resultados obtenidos por separado de halos de inhibición en las concentraciones utilizadas (tabla 1) de los fungicidas 1 y 2 no sobrepasan los 5 y 6 mm de espesor, respectivamente; además, el crecimiento de *A. chroococcum* AC1 es óptimo dentro del área de la placa. La



**Figura 1a.** Halos de inhibición con el fungicida 1, al 20% sobre la cepa de *A. chroococcum* AC1. **1b.** Halos de inhibición con el fungicida 2, al 10% sobre la cepa de *A. chroococcum* AC1.

concentración del fungicida 2 al 10% presentó el mayor halo de inhibición seguido por el fungicida 1 al 30% pero sin ejercer un efecto significativo ( $P < 0,05$ ) sobre la viabilidad de la bacteria.

El medio de cultivo presentó un cambio de color, el cual se puede atribuir a la difusión de los agroquímicos en el medio de cultivo sintético, y posiblemente no es un efecto ocasionado por cada uno de ellos.

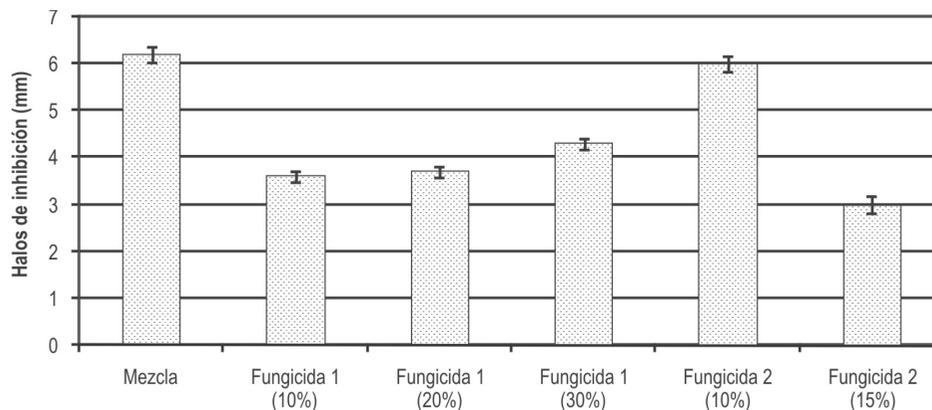
Por otra parte, la evaluación individual de los insecticidas Imidacloprid (10%, 20% y 30%) y Cipermetrina (40%, 50% y 60%) no presentaron ningún efecto significativo ( $P < 0,05$ ) sobre la viabilidad de *A. chroococcum* AC1 en las diferentes concentraciones utilizadas, lo cual permitió un óptimo desarrollo del microorganismo; sin embargo, se procedió a ratificar estos resultados utilizando la metodología de compatibilidad.

Las evaluaciones individuales o en conjunto de los herbicidas S-metolachloro, Flumeturon y Glifosato no mostraron un efecto negativo sobre la viabilidad de *A. chroococcum* AC1. Este resultado es importante debido a que normalmente en campo se utilizan estos tres herbicidas simultáneamente como sellantes en estados de preemergencia de la semilla de algodón, presentando un crecimiento adecuado

de la bacteria sin ningún índice de inhibición en las diferentes concentraciones aplicadas, lo cual permite el uso del biofertilizante sin restricciones.

La mezcla de los herbicidas, fungicidas e insecticidas en la concentración aplicada normalmente en campo dió como resultado un efecto inhibitorio significativo ( $P < 0,05$ ) sobre la viabilidad de *A. chroococcum* AC1, siendo ésta combinación muy posiblemente la que ocasionó un mayor efecto sobre el crecimiento de la bacteria en comparación con los plaguicidas utilizados individualmente (figura 2).

De acuerdo con ello, se podría pensar que los plaguicidas utilizados pudieron tener dificultad para difundirse en el agar en la prueba de Gauze por varios factores de interacción, así como por porosidad, procesos de adsorción, naturaleza del compuesto químico, solubilidad, viscosidad, reactividad química, componentes del medio agrícola, entre otros García y Ordoñez (2003); por esta razón, al entrar en contacto con *A. chroococcum* AC1, no se reflejó claramente un descenso en la biomasa del microorganismo. Además, es posible que durante el periodo de incubación los plaguicidas presentaran evaporación por la exposición continua a una temperatura de  $30 \pm 2^\circ \text{C}$  al cabo de 48 horas, y su efecto sobre el crecimiento no fuera determinado.



**Figura 2.** Promedio (diámetro) de los halos de inhibición de los plaguicidas bajo diferentes concentraciones de aplicación.

Según González (2007), los plaguicidas con presiones de vapor menores a  $1,0 \times 10^{-8}$  mm/Hg tienen bajo potencial para volatilizarse, mientras que con una presión de vapor mayor a  $1,0 \times 10^{-3}$  tienen alto potencial para volatilizarse; por esta razón, la mayoría de los plaguicidas utilizados en la prueba de concentración mínima inhibitoria (CMI) presentaron valores aproximados al rango de volatilización en un porcentaje cercano al 50%.

**Compatibilidad de los plaguicidas en el medio agrícola.** Los resultados obtenidos demostraron el efecto causado en los dos tiempos de contacto de los plaguicidas sobre la bacteria *A. chroococcum* AC1. Cuando se utilizó el fungicida 1 al 20% de concentración sobre *A. chroococcum* AC1, el resultado demostró una disminución de la concentración celular durante las doce horas de contacto, obteniendo a la hora cero una concentración celular de  $6 \times 10^9$  UFC/mL y a las doce horas una concentración de  $6 \times 10^8$  UFC/mL; el efecto de este plaguicida produjo un descenso celular en una unidad logarítmica (figura 3); sin embargo, se podría inferir que el efecto inhibitorio del plaguicida sobre *A. chroococcum* AC1 no es tan relevante debido a que el microorganismo durante este tiempo pudo tolerarlo sin afectar completamente su biomasa; este resultado es similar al obtenido utilizando la metodología de Gauze,

lo que confirma la resistencia del microorganismo al aplicar este agroquímico.

Al utilizar el fungicida 2 al 10%, se observó que durante las primeras horas de contacto el microorganismo no sufre un descenso en su viabilidad de forma significativa; mientras que, a las doce horas de contacto, la bacteria disminuye su concentración celular en una unidad logarítmica lo cual es muy similar al resultado obtenido con el fungicida 1 permitiendo inferir que probablemente los ingredientes activos presentes en estos dos fungicidas son los responsables de generar un efecto negativo mínimo en la concentración celular de *A. chroococcum* AC1, en el caldo agrícola (figura 3).

Al adicionar S-metolachlor (0,75%) en contacto con *A. chroococcum* AC1, a la hora cero se reporta una concentración celular de  $9 \times 10^7$  UFC/mL, lo cual demuestra que en este tiempo el microorganismo sufre un descenso de dos unidades logarítmicas en la concentración en comparación con el recuento inicial; sin embargo, la biomasa de *A. chroococcum* AC1, es constante a lo largo de las doce horas, permitiendo inferir la adaptación o posible resistencia de este microorganismo al herbicida en contacto sin ocasionar un efecto drástico sobre la viabilidad de la bacteria (figura 3). Este resultado es similar al reportado por González-López *et al.*

(1999), quienes afirman que al agregar S-metolachlor en una dosis entre 5-50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  *A. chroococcum* no sufre un efecto negativo significativo en su concentración, sin causar alteraciones en la producción de aminoácidos por este microorganismo.

Estudios realizados por González-López *et al.* (1999) registraron la influencia de herbicidas tales como: alachlor, 2,4-D, 2,4,5-T y 2,3,6-TBA alrededor del 95% sobre la inhibición de *A. chroococcum*, afectando la producción de aminoácidos y su actividad biológica.

Por otra parte, los agroquímicos Imidacloprid, Fluometurom y Glifosato no influyeron en la viabilidad de *A. chroococcum* AC1, en los dos tiempos de contacto evaluados, manteniendo una óptima concentración del microorganismo bajo la dosis aplicada en campo (figura 3).

El Glifosato, tanto en el ensayo de Gauze como en la evaluación de la compatibilidad con el medio agrícola al emplear diferentes dosis (0,5%, 1% y 1,5%), presentó un crecimiento masivo sin afectar la biomasa de la bacteria. Estos resultados son similares a los reportados por Giesy *et al.* (2000), que registran un bajo efecto del Glifosato sobre la población de los microorganismos del suelo. Por otra parte, la molécula del plaguicida no permanece intacta por tiempo indefinido en el medioambiente, debido a que con el tiempo sufre una degradación influenciada por microorganismos, actividad química, pH, temperatura y contenido de materia orgánica del suelo, entre otros (Giesy *et al.*, 2000). De acuerdo con lo anterior, se podría pensar que existe la posibilidad de que el herbicida fue degradado por *A. chroococcum* AC1, sin causar ningún efecto inhibitorio sobre su crecimiento, lo cual confirmaría los resultados obtenidos por Santos y Flores (1995), sobre el posible efecto del Glifosato en el crecimiento, la respiración y la fijación de nitrógeno de *A. chroococcum* y *A. vinelandii* siendo demostrado el efecto tóxico en *A. vinelandii*; mientras que no hubo efecto en la tasa de crecimiento de *A. chroococcum* al utilizar altas dosis de este herbici-

da (20  $\text{kg ha}^{-1}$  y 28  $\text{kg ha}^{-1}$  de Glifosato) se produjo un efecto significativo sobre *A. vinelandii* y *A. chroococcum*, afectando la respiración en 60% y la fijación biológica de nitrógeno en el orden del 80% y 98%, respectivamente; por esta razón, la dosis manejada en el presente estudio (1  $\text{kg ha}^{-1}$ ), permitió garantizar que el Glifosato no produjera ningún efecto sobre la viabilidad de la bacteria, la cual corresponde a la dosis aplicada en los cultivos de algodón.

Los resultados revelan que cuando se utilizó el insecticida con base en Imidacloprid, estaría indirectamente favorecido por el aporte de nutrientes resultante de la degradación de este compuesto, los cuales podrían ser utilizados como fuente de energía por el microorganismo (Tu, 1995). El resultado demostró que al realizar la metodología de compatibilidad en medio agrícola no se obtuvo descenso en la concentración celular, por lo cual se podría pensar muy posiblemente que este compuesto químico no afecta la biomasa del microorganismo revalidando los resultados obtenidos anteriormente.

La Cipermetrina demostró un efecto inhibitorio sobre la concentración celular de *A. chroococcum* AC1, a la hora cero  $70 \times 10^5$  UFC/mL utilizando dosis al 40%, 50% y 60%. No obstante, a las doce horas de haber agregado este insecticida, la concentración celular del microorganismo presentó un ascenso en una unidad logarítmica, debido posiblemente a la degradación de este compuesto por *A. chroococcum* AC1. La Cipermetrina presentó influencia negativa sobre la biomasa de este microorganismo en el momento de ser agregada (figura 3).

La mezcla 1 de los agroquímicos (fungicidas+insecticidas+herbicidas) en las dosis aplicadas en campo presenta, a la hora cero de contacto, un efecto inhibitorio significativo de los agroquímicos en su conjunto sobre *A. chroococcum* AC1, lo que permite inferir que posiblemente existe sinergia de todos o algunos de los componentes agregados en la mezcla con Cipermetrina generando un efecto que al cabo

del tiempo impide el desarrollo normal del microorganismo (figura 3).

Debido a que la Cipermetrina presentó un efecto negativo individualmente sobre *A. chroococcum* AC1, a la hora de contacto, disminuyendo en cuatro unidades logarítmicas la viabilidad del microorganismo, se procedió a evaluar una nueva mezcla sin la adición de Cipermetrina (mezcla 2), la cual presentó a las doce horas de contacto un efecto mínimo sobre la viabilidad del microorganismo; este resultado permitió establecer que no hubo un efecto significativo ( $P < 0,05$ ) sobre *A. chroococcum* AC1, cuando no se agregó la Cipermetrina (figura 3).

Los resultados revelan que *A. chroococcum* AC1 es susceptible al contacto con el insecticida Cipermetrina en la dosis normalmente aplicada en campo, tanto de forma individual o en mezcla de los agroquímicos, induciendo de esta manera a los demás plaguicidas a una expresión más fuerte a través del tiempo (figura 3). Contrario a este resultado, al utilizar la metodología de Gauze (concentración mínima inhibitoria) no se presentó inhibición de *A. chroococcum* AC1 por parte de la Cipermetrina, lo cual posiblemente se puede atribuir al proceso de precipitación en el medio sólido evitando que se pudiese observar la respuesta de dicho plaguicida frente al microorganismo, en com-

paración con el medio líquido donde fue visible el efecto.

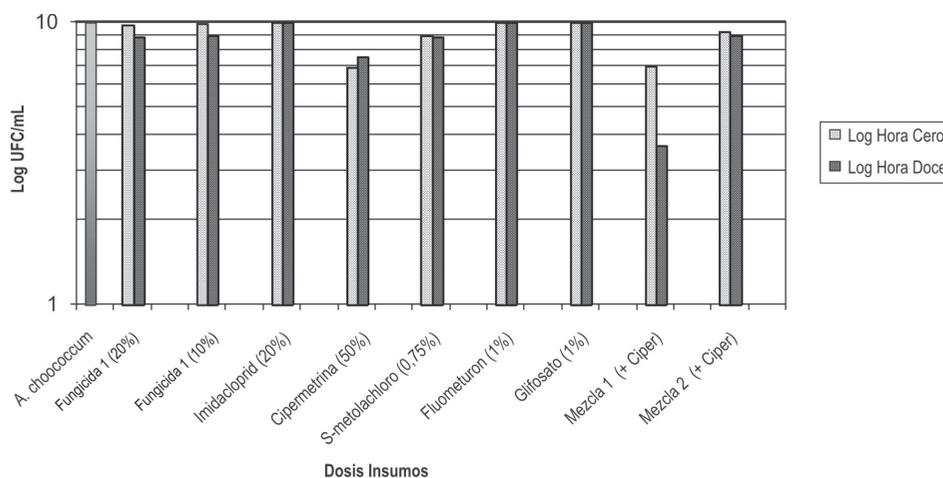
## Conclusiones

El efecto de compatibilidad de la bacteria con los herbicidas (S-metolachloro y Fluometuron) demostró que *A. chroococcum* AC1, puede ser usado con los plaguicidas conjuntamente, sin alterar su concentración.

La utilización de la Cipermetrina sola, o en mezcla con los otros agroquímicos, causa un descenso drástico sobre la población de *A. chroococcum* AC1.

Carboxim, Thiram, Imidacloprid individuales o en mezcla, sin Cipermetrina, no afectan significativamente el crecimiento de *A. chroococcum* AC1.

Este estudio preliminar contribuye a la comprensión de los efectos de agroquímicos sobre *Azotobacter chroococcum* AC1 *in vitro*, por lo que se sugiere adelantar investigaciones más profundas en la búsqueda de microorganismos con potencial de degradación de sustancias químicas en el suelo y su uso compatible en cultivos de interés agrícola.



**Figura 3.** Efecto de los agroquímicos sobre la viabilidad de *A. chroococcum* AC1, en dos tiempos de contacto.

## Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Estación Experimental Motilonia y al Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica.

## Referencias bibliográficas

- Bonilla, B. R., Morales, G. 2005. Monibac: un biofertilizante con base en cepas nativas de *Azotobacter* sp. para incrementar la productividad y sostenibilidad del algodón. Innovación y cambio tecnológico. Bogotá: Corpoica. p. 30-34. Disponible en: [http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Archivos/Revista/5\\_Monibac\\_v4n2-3.PDF](http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Archivos/Revista/5_Monibac_v4n2-3.PDF)
- Doyle, M., Beuchat, L., Montville, T. 2000. Microbiología de los alimentos fundamentos y fronteras. España: Acribia. p. 312-320.
- Durán, L. 1996. Aislamiento de bacterias fosfatolubilizadoras en fincas de los municipios de Bojacá, Gachancipa, Sopó en el departamento de Cundinamarca. Bacteriología. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas. Bogotá. p. 56-64.
- García, A., Ordóñez, D. 2003. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Aislamiento y caracterización de bacterias no filamentosas con capacidad degradadora de plaguicidas a partir de suelo superficial de cultivos de arroz (*oryza sativa* L.).
- Giesy, J. P., Dobson, S., Solomon, K. R. 2000. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 167: 35-120.
- González, J., Lluch, C. 1992. Biología del nitrógeno. Interacción planta-microorganismo. Madrid: Rueda. p. 141-161.
- González-López, M., Martínez-Toledo, Rodelas, B., Salmirón, V. 1999. Effect of some herbicides on the production of lysine by *Azotobacter chroococcum*. Department of Microbiology. University of Granada, Amino Acids 17: 165-173.
- González, M. R. 2007. Presencia de residuos de fungicidas e insecticidas en muestras comerciales de hortalizas de hojas. Universidad de Vigo. Ourense. Departamento de Química Analítica y Alimentaria. p. 11-13.
- Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. 2004. Brock. Biología de los microorganismos. 10 edición revisada. Madrid: Prentice Hall Iberia. p. 986.
- Paoletti, M. G. 1999. The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. Agriculture, Ecosystems and Environment 74 (1-3): 137-155.
- Racke, D. 1990. Pesticides in the soil microbial ecosystem. En enhanced biodegradation of pesticides in the environment. Washington D.C.: American Chemistry Society. p. 625.
- Santos, A. Flores, M. 1995. Effects of glyphosate on nitrogen fixation of free-living heterotrophic bacteria. Journal Microbiology 20 (6): 349-352.
- Tu, C. M. 1995. Effect of five insecticides on microbial and enzymatic activities in sandy soil. J Environ Sci Health 30: 289-306.