

EFECTO DE AGROQUÍMICOS PELETIZADOS
EN SEMILLAS DE ALGODÓN SOBRE EL
BIOFERTILIZANTE MONIBAC®
CON BASE EN (*Azotobacter chroococcum*)

EFFECT OF AGROCHEMICALS IN COTTON
SEED PELLETS ON MONIBAC® BIOFERTILISER
BASED ON (*Azotobacter chroococcum*)

EFEITO DE AGROQUÍMICOS PELETIZADOS
EM SEMENTES DE ALGODÃO SOBRE O
BIOLFERTILIZANTE MONIBAC® CONTENDO
(*Azotobacter chroococcum*)

DIEGO RIVERA¹, MELISSA OBANDO¹, MARÍA F. GARRIDO¹, RUTH BONILLA²

RESUMEN

En la presente investigación, se analizó la influencia in vitro de los plaguicidas peletizados simultáneamente con el fungicida (principios activos: carboxin: 5,6-dihydro-2-methyl-N-phenyl-1,4-oxathiin-3 carboxamide y tiram: tetramethylthioperoxydicarbonic diamide) y un insecticida (principio activo: malatión: S-1,2-Bis(ethoxycarbonyl)ethyl-O,O dimethylthiophosphate) en las semillas de algodón sobre la viabilidad del biofertilizante Monibac®-Corpoica con base en

Recibido para evaluación: 27/04/2011. **Aprobado para publicación:** 17/08/2011

1. Investigadores Laboratorio Microbiología de Suelos, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica, Mosquera (Colombia)
2. Líder Ph.D. Laboratorio Microbiología de Suelos, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica, Mosquera.

Correspondencia: Email: rbonilla@corpoica.org.co.

*Azotobacter chroococcum AC1, cuando fueron aplicados conjuntamente en bandejas experimentales. Se analizó la práctica de recubrir las semillas con los agroquímicos como posible causa de descenso poblacional de la bacteria bajo este modelo de aplicación. Los resultados obtenidos por el Test de Duncan ($p \leq 0,05$) demostraron que la aplicación de agroquímicos influye en la viabilidad de *A. chroococcum AC1*, ocasionando un descenso en su concentración pero sin implicar la desaparición completa del microorganismo en la semilla de algodón. Así mismo, el tiempo de contacto de los plaguicidas con el microorganismo influyó ($p \leq 0,05$) sobre la viabilidad de ésta reflejándose una disminución en su concentración a mayor tiempo de exposición. Este estudio, contribuye con el conocimiento sobre la utilización eficiente de biofertilizantes analizando la compatibilidad que existe con los agroquímicos aplicados al cultivo de algodón permitiendo utilizar estos insumos químicos sin que afecte la multiplicación y actividad de los microorganismos.*

ABSTRACT

*In this study, we analyzed the influence of pesticides in vitro pellet simultaneously with the fungicide (active ingredient: carboxin: 5,6-dihydro-2-methyl-N-phenyl-1,4-oxathiin-3 carboxamide and tiram: tetramethylthioperoxydicarbonic diamide) and an insecticide (active ingredient: Malathion: S-1, 2-Bis (ethoxycarbonyl) ethyl-O, O-dimethylthiophosphate) in cotton seeds on the viability of biofertiliser Monibac®-based Corpoica *Azotobacter chroococcum AC1*, when applied together in experimental trays. We analyzed the practice of coating the seeds with chemicals as possible causes of population decline of the bacteria in this model of implementation. The results obtained by Duncan's test ($p \leq 0.05$) demonstrated that the use of agrochemicals affect the viability of *A. chroococcum AC1*, causing a decrease in concentration but without involving the disappearance of the organism in the cotton seed. Likewise, the contact time with the microorganism pesticides influenced ($p \leq 0.05$) on the viability of this reflected a decrease in concentration with increasing length of exposure. This study contributes to knowledge on the efficient use of biofertilisers to the compatibility that exists with the chemicals applied to cotton farming inputs allowing use these chemicals without affecting the proliferation and activity of microorganisms.*

RESUMO

*No presente trabalho foi analisado a influencia in vitro dos plaguicidas peletizados simultaneamente com os fungicidas carboxin (5,6-dihidro-2-metil-N-fenil-1,4-oxatiin-3 carboxamida) e tiram (tetrametilthioperoxydicarbonic diamida) alem do inseticida malation (S-1,2 Bis(ethoxycarbonyl)ethyl-O,O imethylthiophosphate) nas sementes de algodão sobre a viabilidade do biofertilizante Monibac – Corpoica contendo *Azotobacter chroococcum*, estirpe AC1, quando foram aplicados conjuntamente em bandejas experimentais. Foi analisado a pratica de recobrimento das sementes com*

PALABRAS CLAVE:

*plaguicidas, *Azotobacter chroococcum*, viabilidad, compatibilidad.*

KEYWORDS:

*Pesticides, *Azotobacter chroococcum*, viability, compatibility.*

PALAVRAS-CHAVE:

*Plaguicidas, *Azotobacter chroococcum*, viabilidade, compatibilidade.*

os agroquímicos como possível causa da diminuição populacional das bactérias submetidas a este modelo de aplicação. Os resultados obtidos pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$) demonstraram que a aplicação dos agroquímicos influiu na viabilidade de *A. chroococcum* AC1, ocasionando um decréscimo populacional mas sem implicar no desaparecimento completo do microrganismo na semente de algodão. Assim mesmo, o tempo de contato dos plaguicidas com o microrganismo afetou a viabilidade deste, refletindo se em uma diminuição na concentração celular no maior tempo de exposição. Este estudo contribui com o conhecimento sobre a utilização eficiente de biofertilizantes analisando a compatibilidade que existe entre os agroquímicos aplicados aos cultivos de algodão permitindo utilizar estes insumos químicos sem afetar a multiplicação e a atividade dos microrganismos.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la población junto con el agotamiento de los recursos biológicos se han convertido en una problemática mundial explotada continuamente hasta el punto de tornarse en una de las situaciones actualmente más incontrolables, lo cual se ha manifestado principalmente en el cambio climático del planeta; adoptando en gran medida, la utilización de agroquímicos para contribuir a la seguridad alimentaria. Sin embargo, lo anterior ha generado el alto consumo de alimentos con residuos de agroquímicos y ha favorecido la pérdida de la capacidad de fertilización de los suelos; ocasionando daños drásticos al medio ambiente y la salud humana [1, 2].

El uso de plaguicidas es muy común en la agricultura tradicional, así como las medidas de protección de plantas y durante el almacenamiento de las semillas. Los plaguicidas incluyen insecticidas, herbicidas, fungicidas, nematocidas y rodenticidas. Encontrándose una amplia gama de productos químicos como los hidrocarburos clorados, compuestos orgánicos de fósforo, carbamatos, compuestos orgánicos de azufre, moléculas heterocíclicas, fenoles, compuestos de amonio cuaternario, halogenados y nitroaromáticos ó sustancias alifáticas y una serie de sustancias inorgánicas [3].

Dentro de los mecanismos más representativos que ha generado la pérdida de la capacidad productiva y biológica del suelo se atribuye al uso intensivo de plaguicidas lo que está convirtiendo a los campos agrícolas en depósitos de desechos tóxicos por la acumulación continua de residuos químicos, siendo los herbicidas los más ampliamente usados constituyendo más del 40% del total, seguidos por los insecticidas con el 30% y los funguicidas con el 20% [4].

El efecto directo de los plaguicidas sobre los aspectos microbiológicos del suelo, que a su vez, afectan el crecimiento de plantas se encuentran principalmente

relacionados con: los cambios en la población de *Azotobacter* sp., *Rhizobium* sp., microorganismos celulolíticos y microorganismos solubilizadores de fosfato que determinan la fertilidad del suelo, cambio en el número de nódulos y raíces laterales en leguminosas y el efecto en la simbiosis micorriza en las plantas; así mismo, cambios en los aspectos cuantitativos de varios microorganismos en el suelo que perturban el equilibrio microbiológico, la alteración en el balance de nitrógeno en el suelo por los cambios en el crecimiento y la actividad de las bacterias nitrificantes, *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* [3].

Bajo este contexto, se busca alternativas sustentables que contribuyan a una agricultura centrada en el proceso vital del suelo para mitigar la aplicación de agroquímicos. Frente a este tipo de adversidades, los microorganismos tienen un potencial genético excepcional que les permite tolerar y reacomodar su composición poblacional mediante estrategias como la selección intra e interespecífica, las mutaciones, la activación de genes bloqueados, actividades enzimáticas, entre otros [5].

Esta situación ha obligado a que el sector algodonero de gran importancia agrícola en el país al aportar un 26,1% en la producción nacional establezca planes de mejoramiento de la fertilidad del suelo lo cual ha reducido el uso de fertilizantes de síntesis química mediante el empleo de tecnologías limpias [6]. En Colombia, los departamentos del Tolima y Huila se convierten en los principales departamentos algodoneros del interior cuyo rendimiento de fibra durante los años 2004-2006 fue de 960 kg·ha⁻¹ comparado con 710 kg·ha⁻¹ de la costa. Para el algodón, la superficie reportada por conalgodón en el Tolima durante la primera mitad del 2008 asciende a 8.869 hectáreas, equivalentes a una caída de 2.779 hectáreas (-23,9%) con respecto al primer semestre de 2007, cuando se contabilizaron 11.648 hectáreas. Este descenso es atribuible al traslado de tierras que anteriormente se dedicaban al cultivo de la fibra hacia

otras actividades con mejores perspectivas, tales como arroz, maíz y sorgo. Y así mismo, a la utilización de algunos tipos de semilla que no han dado los rendimientos esperados [7].

Sin embargo, debido al intenso verano en los dos últimos años, los algodoneros incrementaron la aplicación de insecticidas y así mismo se reflejó un aumento en el precio de los fertilizantes nitrogenados de síntesis lo que ocasionó un fuerte incremento en los costos de producción. Es por lo anterior, que los factores biológicos se convierten en criterios importantes para valorar el manejo de los suelos, de tal forma que se crea la necesidad de orientar la producción agrícola hacia nuevas tecnologías fundamentadas en la recuperación de los suelos mediante un manejo agroecológico sostenido y ser ente de solución al problema de cambio climático del planeta [5].

En Colombia, el grupo de investigación conformado por el Laboratorio Microbiología de Suelos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica ha venido avanzando y estudiando las interacciones biológicas en la búsqueda de microorganismos nativos con potencial biofertilizante en diferentes cultivos [8], que disminuyan la demanda nacional de agroquímicos; razón por la cual el grupo cuenta en la actualidad con el producto biológico Monibac®, el cual ha demostrado optimizar el rendimiento de los cultivos, principalmente algodón, tomate, lechuga, ají y diferentes gramíneas mediante la reducción del 50% de fertilización nitrogenada de síntesis e incrementando la calidad y cantidad de la producción; permitiéndole soluciones biotecnológicas y sostenibles a los agricultores de nuestro país [9].

Los datos de campo e *in vitro* sobre los efectos de los fertilizantes nitrogenados, fungicidas, insecticidas y herbicidas sobre las bacterias fijadoras de nitrógeno asociadas a los cultivos de interés agrícola son escasos [10]; motivo por el cual el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de agroquímicos de forma peletizada en semillas de algodón sobre el fertilizante biológico Monibac®, cuyo ingrediente activo es la bacteria fijadora de nitrógeno *Azotobacter chroococcum* AC1.

MÉTODO

Localización. Esta investigación se desarrolló en el laboratorio de Microbiología de Suelos del centro de Biotecnología y Bioindustria CBB-Corpoica (Mosquera).

Microorganismo Utilizado. Se empleó la cepa AC1 de *Azotobacter chroococcum*, proveniente del Banco de microorganismos del Laboratorio de Microbiología de Suelos (CBB-Corpoica C.I Tibaitatá). Esta cepa fue aislada de cultivos de algodón, en la Estación Experimental Motilonia, Codazzi-Cesar [9].

Reactivación del inóculo. La cepa de *Azotobacter chroococcum* AC1, se reactivó en placas de medio de cultivo agrícola (g L⁻¹): K₂HPO₄*3H₂O, 2,4; MgSO₄*7H₂O, 0,1; Glucosa, 5; CaCl₂, 0,1; Extracto de Levadura, 5; MnSO₄, 0,1; FeSO₄*7H₂O, 0,1; (NH₄)₂SO₄, 4; pH: 7,2), mediante siembra por agotamiento. Se incubaron a 30 ± 2°C durante 48 h y se realizó tinción de Gram para confirmar la pureza de la cepa [11].

Estandarización del inóculo. Se realizó una suspensión celular al 10% en solución salina (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 48h a 30 ± 2°C y 120 rpm. Posteriormente, se determinaron las unidades formadoras de colonia por mililitro (ufc/mL) del inóculo empleando diluciones seriadas desde 10⁻² hasta 10⁻⁸ y recuento en placa por la técnica de microgota, después de 48h de incubación a 30 ± 2°C [12]. El producto comercial Monibac® fue empleado de acuerdo a las recomendaciones de aplicación de la ficha técnica.

Proceso de peletización. Se combinaron las semillas junto con los diferentes plaguicidas; estas semillas fueron recubiertas simultáneamente con el fungicida (cuyos principios activos son: Carboxin:

5,6-dihydro-2-methyl-N-phenyl-1,4-oxathiin-3-carboxamide y Tiram: tetramethylthioperoxydicarbonic diamide) y el insecticida (cuyo principio activo es: Malatión: S-1,2-Bis(ethoxycarbonyl)ethyl-O,O dimethylthiophosphate), lo anterior se realizó con el fin de prevenir que las semillas fueran invadidas por plagas en etapa de almacenamiento. Las dosis empleadas fueron: (200 g/100 kg.semilla/L agua del fungicida y 0,5 L/100 kg.semilla/L agua del insecticida). Para tratar la semilla: se adicionaron los agroquímicos simultáneamente en un recipiente a un volumen definido para que la semilla se impregnara uniformemente con los productos y a continuación se dispuso la semilla a secar al ambiente (semillas comerciales con los plaguicidas). Así mismo, se utilizaron semillas deslindadas (libres de plaguicidas) como tratamiento testigo.

Por último, después del recubrimiento de las semillas con los insumos químicos, se procedió a la adhesión in vitro del producto comercial Monibac®. Para el proceso in vitro de adhesión del microorganismo a la semilla (con y sin plaguicidas) se aplicó solución azucarada al 10% y carbonato de calcio (con CaCO₃ y sin CaCO₃); y se cuantificó su concentración mediante recuento de ufc/g de semilla de *A. chroococcum* AC1, a la hora cero y a las 24 h mediante diferentes dosis del producto comercial Monibac® (tabla 1). Los tratamientos se realizaron por triplicado y se realizó la cuantificación mediante la metodología de viabilidad celular descrita anteriormente.

Determinación de la viabilidad celular. La determinación de ufc/g semilla se realizó por el método de diluciones seriadas desde 10⁻² hasta 10⁻⁸ y recuento en placa por la técnica de microgota [12]. Para el recuento del microorganismo en placa se dividió la caja de petri (medio agrícola) en cuatro cuadrantes y se inocularon 20 µl de la muestra en superficie, consecutivamente se incubaron a 30 ± 2°C durante 48 h.

Diseño experimental y análisis estadístico. Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial y un análisis de varianza mediante el test de Duncan con un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0,05$) a través del programa estadístico SPSS, Versión 17.

Tabla 1. Aplicación de diferentes dosis del biofertilizante Monibac®, sobre las semillas de algodón (*Gossypium hirsutum* var. *caribeña*).

*Dosis <i>A. chroococcum</i>	Tratamientos (semillas de algodón)
1000 g/ha Monibac	SST(a): Semilla sin tratar
	ST(a): Semilla tratada
1500 g/ha Monibac	SST(b): Semilla sin tratar
	ST(b): Semilla Tratada
2000 g/ha Monibac**	SST(c): Semilla sin tratar
	ST(c): Semilla Tratada
2500 g/ha Monibac	SST(d): Semilla sin tratar
	ST(d): Semilla Tratada

* Valores equivalentes disminuidos a nivel de laboratorio.

** Dosis comercial del biofertilizante aplicada en campo.

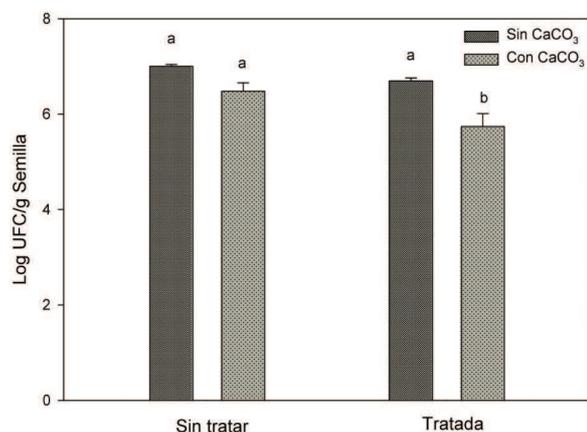
RESULTADOS

Se observó que la utilización de carbonato de calcio no tuvo un efecto estadísticamente significativo en el crecimiento de *A. chroococcum* AC1. Lo anterior fue confirmado cuando se utilizó el carbonato de calcio tanto en las semillas sin tratar con plaguicidas como las semillas tratadas sobre la viabilidad de *A. chroococcum* AC1, demostrando que este tipo de sustancia no presenta un efecto marcado, mientras que las semillas con agroquímicos presentaron influencia sobre el crecimiento de la bacteria (Figura 1).

Estudios previos evaluaron los efectos de una única aplicación de los plaguicidas dinoseb acetato, pentaclorofenol, y dodecil sulfonato de sodio, en condiciones controladas de laboratorio y en campo [13]. Los resultados obtenidos al aplicar estos plaguicidas permitieron inferir que en situaciones reales donde los agricultores usan diferentes tipos de productos químicos simultáneamente en un cultivo y un ciclo de cultivo, la situación podría ser diferente [13, 14, 15].

Por lo que, las combinaciones de diversos plaguicidas pueden dar lugar a interacciones que muestran efectos aditivos, sinérgicos o antagónicos y pueden desviarse de la conducta de los componentes individuales con respecto a su persistencia y de dispersión [16]. De acuerdo a lo anterior, se pudieron presentar efectos no intencionados entre sustancias que no fueron determinadas debido a su combinación entre los distintos

Figura 1. Efecto del carbonato de calcio (CaCO₃) sobre la población de *A. chroococcum* AC1, en semillas de algodón sin tratar y tratadas con plaguicidas. Medias seguidas con la misma letra en cada factor evaluado no presentan diferencia significativa entre sí por el Test de Duncan ($p \leq 0,05$).



tipos de plaguicidas y que muy posiblemente afectaron actividades fisiológicas de la bacteria en estudio.

En trabajos realizados [17], determinaron que la presencia de 10 a 300 μg de malatión/g de suelo agrícola redujo significativamente el número total de bacterias fijadoras de nitrógeno. Las bacterias nitrificantes y las poblaciones de hongos no se vieron afectadas como consecuencia de la adición de este insecticida, lo cual demuestra que estos microorganismos pueden tolerar grandes cantidades de estas sustancias. Esta situación, permite inferir que la metodología empleada en esta investigación no reflejó directamente el efecto que pudo haber generado el aplicar el malatión. A pesar de esto, los resultados obtenidos son similares a los reportados debido al tipo de bacterias utilizadas en estos estudios, por lo que cuando se observó la respuesta frente a otros tipos de organismos no hubo un efecto negativo en su población.

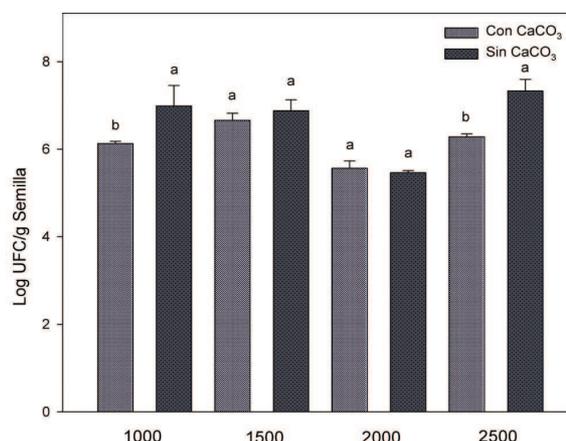
Cuando se realizó la comparación de los resultados obtenidos en esta investigación con relación a estudios desarrollados por otros autores como [10], se encuentra una gran semejanza, con la especie de *Azotobacter chroococcum* (CBD-15), que fue utilizada conjuntamente con el fungicida Thiram, siendo compatible con este fungicida. Resultados similares fueron reportados [11], quienes utilizaron la metodología de concentración mínima inhibitoria no presentándose efectos de este fungicida sobre la bacteria en estudio.

Sin embargo, hay que discutir que no todas las cepas fijadoras de nitrógeno presentan la misma capacidad de tolerar el efecto del fungicida Thiram, debido a que en trabajos realizados [10, 18], demuestran la susceptibilidad fenotípica de la cepa *Mesorhizobium ciceri* cuando se realiza la aplicación del fungicida en las semillas de garbanzo.

En cuanto a las dosis de Monibac® de 1500 g y 2000 g, se observó que el carbonato de calcio no influyó significativamente sobre la viabilidad de *A. chroococcum* AC1, al aplicar esta sustancia en los dos tipos de semillas utilizadas. Mientras que, en las dosis de 1000 g y 2500 g se presentó un efecto significativo sobre la viabilidad del microorganismo cuando no se aplicó carbonato de calcio (Figura 2).

El resultado anterior podría sugerir preliminarmente que el CaCO_3 , en dosis menores o altas de acuerdo

Figura 2. Efecto del carbonato de calcio (CaCO_3) sobre la viabilidad de *Azotobacter chroococcum* AC1, al ser aplicado a diferentes dosis en las semillas de algodón. Medias seguidas con la misma letra en cada factor evaluado no presentan diferencia significativa entre sí por el Test de Duncan ($p \leq 0,05$).



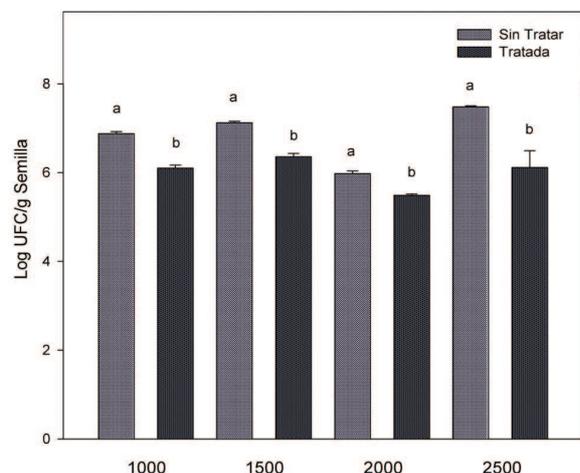
a la aplicación del inoculante puede presentar algún efecto en el metabolismo de *A. chroococcum* AC1, que contribuyó con dicho comportamiento. Sin embargo, en las dosis intermedias el efecto no fue significativo. Este comportamiento puede ser atribuido a características fisiológicas propias de los géneros diazotróficos, así como a su capacidad de modificar los patrones metabólicos propios de cada género cuando las condiciones son alteradas, principalmente la disponibilidad de carbono y nitrógeno, contenido de humedad, tensión de oxígeno entre otras [19].

El grado en que los efectos observados en las pruebas de laboratorio con *A. chroococcum* AC1, puedan extrapolarse al suelo, especialmente en la rizósfera merece más atención debido a que una serie de factores como: el clima, tipo de suelo, prácticas agrícolas y la composición de la comunidad microbiana, también influyen en los efectos de estos compuestos químicos.

En relación con las dosis del biofertilizante Monibac® en las semillas, se presentó que en todas las dosis del inoculante evaluadas sin agroquímicos hubo un efecto positivo sobre la viabilidad del microorganismo en comparación con las semillas tratadas con plaguicidas donde se manifestó un descenso en la concentración de la bacteria (Figura 3).

Además, en trabajos realizados [20], utilizando diferentes insecticidas entre ellos la cipermetrina se presenta cambios temporales en la población de *Azotobacter*

Figura 3. Efecto de la dosis de inoculante sobre la población de *Azotobacter chroococcum* AC1, en semilla tratada y sin tratar con plaguicidas. Medias seguidas con la misma letra en cada factor evaluado no presentan diferencia significativa entre sí por el Test de Duncan ($p \leq 0,05$).



sp., y su capacidad de reducción de hierro, lo cual manifiesta un efecto no tan continuo de este tipo de plaguicida frente a otros tipos de plaguicidas empleados en el cultivo de algodón, debido a que su persistencia en el suelo es baja con comportamiento similar a un suelo no expuesto a este tipo de insecticida. Resultados similares han sido reportados [11], donde emplearon un concentrado emulsionable (EC), de cipermetrina encontrando un efecto de este insecticida sobre *Azotobacter chroococcum*, durante 24 horas de contacto.

Los resultados obtenidos permiten inferir que la forma tradicional de aplicación de los agroquímicos influye en la viabilidad de *A. chroococcum* AC1, cuando la bacteria es adherida, debido a que se presenta un fuerte impacto entre la diferentes sustancias aplicadas de forma simultánea; ocasionando un leve descenso en su concentración. Estos resultados podrían afectar según autores [21], la motilidad por parte de *Azotobacter* sp. cuando se realizan inoculaciones en la semilla, ya que de esta manera en diferentes cultivos se asegura la permanencia de la bacteria en el sitio de inoculación, lo cual podría influir sobre la parte fisiológica de la bacteria

Resultados reportados [22], demostraron que los efectos de diferentes agroquímicos fueron más evidentes cuando los organismos fueron cultivados en un medio de dializado de suelo (similar al medio ambiente natural) en comparación con las respuestas observadas en

medios químicamente definidos, debido a que estos medios son enriquecidos y el microorganismo presenta condiciones más favorables para su mantenimiento. El anterior estudio, permite analizar que los resultados obtenidos en esta investigación pudieron ser enmascarados a nivel de laboratorio, modificando las propiedades y comportamientos de *A. chroococcum* AC1, por lo que es necesario realizar investigaciones a nivel de invernadero o campo para cuantificar el efecto de los agroquímicos y la interacción con diferentes variables edafoclimáticas y diversidad microbiana.

Por otra parte, se analizaron los factores (hora de contacto y semilla (con y sin agroquímicos)) de forma simultánea sobre la viabilidad de *A. chroococcum* AC1, lo cual reflejó efectos estadísticamente significativos en el crecimiento de la bacteria, manifestándose una disminución cuando este fue adherido sobre las semillas con agroquímicos mientras más tiempo de exposición, en comparación con las semillas de algodón libres de plaguicidas que no presentaron diferencias significativas (tabla 2).

Dependiendo de la metodología empleada y los diferentes plaguicidas utilizados (herbicidas, insecticidas y fungicidas) será la expresión biológica de *A. chroococcum* AC1, por lo que su respuesta está condicionada por factores metabólicos estrictos por este tipo de microorganismo. Esto lo reporta [23], quienes afirmaron que la presencia de benzidina incrementa el crecimiento y la actividad biológica de *Azotobacter* sp., mostrando que estos microorganismos pueden tolerar altas concentraciones de este compuesto.

Tabla 2. Efecto de la hora de contacto y el tipo de semilla empleada sobre la viabilidad de *A. chroococcum* AC1.

Hora de Contacto (Horas)	Semilla	Log ₁₀ UFC/g*
0	Sin Tratar	6,984 a
24		6,797 a
0	Tratada	6,456 a
24		5,966 b

* Medias seguidas con la misma letra en cada factor evaluado no presentan diferencia significativa entre sí por el Test de Duncan ($p \leq 0,05$).

Además de acuerdo al tipo de bacteria asimbiótica evaluada, es la expresión e influencia de los agroquímicos sobre las características fisiológicas: como la actividad de la nitrogenasa, la producción de indol-3-ácido acético, la producción de A3 giberelina y la actividad de solubilización fosfato, por tanto se pudo evidenciar un cambio en la morfología de las células que resulta en un mayor número de células pleomórficas [24]

Según [24], afirmaron que los herbicidas con la excepción de 2,4D han tenido un menor efecto en la población microbiana en comparación con los insecticidas y fungicidas. Siendo los herbicidas butacloro, alaclor y atrazina, los que permitieron estimular el crecimiento de *G. diazotrophicus* en determinados períodos, cuando se agregaron a sus concentraciones recomendadas. Pero cuando las cantidades se añadieron a los medios de mayor crecimiento, la población se redujo ligeramente.

CONCLUSIONES

Las conclusiones bajo las metodologías en las que se realizó la investigación son las siguientes:

La utilización del inoculante en semillas tratadas con agroquímicos al cabo de las 24 horas de exposición presentó una disminución en la viabilidad de *A. chroococcum* AC1.

Se determinó que el uso de plaguicidas en la semilla de algodón, efectivamente ocasionó un descenso en la población de *A. chroococcum* AC1; presentando la semilla sin tratar valores mas óptimos del fertilizante biológico.

Las semillas de algodón sin tratar (libre de plaguicidas), mostraron un mejor comportamiento con la utilización de carbonato de calcio a la hora cero, con respecto a la población bacteriana.

AGRADECIMIENTOS

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

REFERENCIAS

- [1] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Cambio Climático y seguridad alimentaria: un documento marco. Disponible En: <http://www.fao.org/docrep/010/i0145s/i0145s00.htm> [Citado 9 de Febrero de 2010].
- [2] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Perfil para el Cambio climático. Disponible En: <http://www.fao.org/docrep/012/i1323s/i1323s00.htm> [Citado 17 de Marzo de 2010].
- [3] RAMANI, V. Effect of pesticides on phosphate solubilization by *Bacillus sphaericus* and *Pseudomonas cepacia*. *Science Direct. Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2011; 99: 232–236 p.
- [4] FERRARO, D.O. and PIMENTEL, D. Pesticides in agroecosystems and their ecological effects on the structure and function of soil faunal populations. *Pesticides, People Nature*. 2000; 2: 1-13.
- [5] ACUÑA, O.W., PEÑA, E. SERRANO, L. POCASANGRE, F. ROSALES, E. DELGADO, J. TREJOS y SEGURA, A. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de los suelos. En: *Memorias XVII Reunión Internacional da Associação para a Cooperação nas Pesquisas sobre Banana no Caribe e na América Tropical*. 15 a 20 de outubro de 2006. Santa catarina, Brasil. 222-233 p.
- [6] CONFEDERACIÓN COLOMBIANA DE ALGODÓN (CONALGODÓN). Resultados de la cosecha algodónera Costa-Llanos 2006/2007. Disponible En: http://www.conalgodon.com/portal/02_costosprod.html [Citado 19 de Enero de 2010].
- [7] CONFEDERACIÓN COLOMBIANA DE ALGODÓN (CONALGODÓN). Informe de Coyuntura Económica Regional Departamento del Tolima Primer semestre 2008. Disponible En: http://www.banrep.gov.co/documentos/publicaciones/regional/ICER/tolima/2008_1.pdf; [Citado 10 de Marzo de 2010].
- [8] OBANDO, M., BURGOS, L., RIVERA, D., GARRIDO, M., BALDANI, V. y BONILLA, B.R. Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (*Eucalyptus* sp.) en Codazzi, Cesar. *Acta biol. Colomb*. 2010; Vol.: 15 No. 3, 105 – 118.
- [9] BONILLA, B.R. y MORALES, G. Monibac®: Un biofertilizante con base en cepas nativas de *Azotobacter* sp. para incrementar la productividad y sostenibilidad del algodónero. *Rev. Corpoica*. 2005; 30-34.

- [10] GAIND S., RATHI M.S., KAUSHIK B.D., NAIN L. and VERMA, OM.P. Survival of bio-inoculants on fungicides-treated seeds of wheat, pea and chickpea and subsequent effect on chickpea yield. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 2007; 42: 663–668 p.
- [11] RIVERA, D., CAMELO M., ESTRADA, G., OBANDO, M. y BONILLA B.R. Efecto de diferentes plaguicidas sobre el crecimiento de *Azotobacter chroococcum*. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 2010; Vol. XII No. 1: 94-102 p.
- [12] DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R. y MONTVILLE, T. *Microbiología de los alimentos fundamentos y fronteras*. Editorial Acribia, España. 2000; p. 312-320.
- [13] MALKOMES, H.P. y WOHLER, B. Testing and evaluating some methods to investigate soil effects of environmental chemicals on soil microorganisms. *Ecotoxicol. Environ.* 1983; Saf. 7: 284-294 p.
- [14] TU, C.M. Effects of selected pesticides on activities of invertase, amylase and microbial respiration in sandy soil. *Chemosphere*. 1988; Vol.: 17 [1]: 159-163 p.
- [15] TU, C.M. Effect of five insecticides on microbial and enzymatic activities in sandy soil. *J. Environ. Sci. Health B*. 1995; Vol.: 30 [1]: 289-306 p.
- [16] KAUFMAN, D.D. Biodegradation and persistence of several acetamide, acylanilide, azide, carbamate and organophosphate combinations. *Soil Biol. Biochem.* 1977; [9]: 49-57 p.
- [17] GONZÁLEZ-LÓPEZ, J., MARTÍNEZ-TOLEDO, M.V., RODELAS, B. and SALMERÓN, V. Studies on the effects of the insecticides phorate and malathion on soil microorganisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2009; Vol.:12 No. 7: 1209–1214 p.
- [18] AGGARWAL, T.C., NARULA, N., and GUPTA, K.G. Effect of some carbamate pesticides on nodulation, plant yield and nitrogen fixation by *Pisum sativum* and *Vigna sinensis* in the presence of their respective rhizobia. *Plant Soil* 1986; 94: 125–132 p.
- [19] SADASIVAN, L. y NEYRA C.A. Cyst production and brown pigment formation in aging cultures of *Azospirillum brasilense* ATCC 29145. *J. Bacteriol.* 1987; 169 (4): 1670-1677 p.
- [20] VIG, K., SINGH, D.K., AGARWAL, H.C., DHAWAN, A.K. and DUREJA, P. Soil microorganisms in cotton fields sequentially treated with insecticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2008; 69: 263–276 p.
- [21] VAN VEEN, J.A. y HEIJNEN C.E. The fate and activity of microorganisms introduced into soil. In: *Soil Biota, Management in Sustainable Farming Systems*. C.E. Pankhurst, B.M. Doube, V.V.S.R. Gupts y P.R. Grace (eds.). CSIRO Victoria, Australia. 1994; 50-62 p.
- [22] MARTÍNEZ-TOLEDO, M.V., SALMERÓN V. and GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. Effect of simazine on the biological activity of *Azotobacter chroococcum*. *Soil Sci.* 1991b; 151: 459-467 p.
- [23] POZO, C., MARTÍNEZ-TOLEDO, M.V., SALMERÓN, V. RODELAS, and GONZÁLEZ LOPEZ, J. Effects of benazidone and benazidone analogues on the growth and nitrogenase activity of *Azotobacter*. *Soil Ecology*. 2000; 14: 183-190 p.
- [24] MADHAIYAN, M.S., et al. Influence of pesticides on the growth rate and plant-growth promoting traits of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2006; 84: 143-154 p.