



Efecto de adyuvantes, fungicidas, bactericidas e insecticidas en el crecimiento de *Bacillus subtilis* Bs006*

Effect of adjuvants, fungicides, bactericides and insecticides on the growth of *Bacillus subtilis* Bs006

Sandra Milena Barrios-Candil¹, Yimmy Alexander Zapata-Narváez², Andrés Díaz-García¹

* Recepción: 22 de julio, 2025. Aceptación: 30 de enero, 2026. Este trabajo formó parte de un proyecto de investigación financiado por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Sede Central. Mosquera, Colombia. sbarrios@agrosavia.co (autora para correspondencia, <https://orcid.org/0000-0003-2789-3622>); adiaz@agrosavia.co (<https://orcid.org/0000-0002-8638-7968>).

² Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Tibaitatá. Mosquera, Colombia. jzapatan@agrosavia.co (<https://orcid.org/0000-0002-7586-209X>).

Resumen

Introducción. El bioestimulante Natibac[®], basado en *Bacillus subtilis* Bs006 y desarrollado por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), ha demostrado un efecto promotor del crecimiento en múltiples sistemas productivos de hortalizas y frutales. Para garantizar la eficacia del bioproducto, es fundamental asegurar su establecimiento en el suelo y su interacción con diferentes agroquímicos que pueden afectar la viabilidad del ingrediente activo. **Objetivo.** Determinar el efecto de diferentes agroquímicos utilizados en cultivos hortofrutícolas sobre el crecimiento de *Bacillus subtilis* Bs006, con el propósito de generar recomendaciones de uso en estrategias de manejo integrado. **Materiales y métodos.** El estudio se ejecutó en 2024 en la Planta Piloto de Bioproductos de AGROSAVIA, Mosquera, Colombia. Se evaluó el efecto *in vitro* de 57 agroquímicos ampliamente usados en el país sobre el crecimiento de *B. subtilis* Bs006, incluyendo fungicidas, bactericidas, insecticidas, fertilizantes y coadyuvantes, en tres dosis diferentes. La sensibilidad bacteriana a los agroquímicos se determinó midiendo los halos de inhibición de acuerdo con una escala de compatibilidad. Se realizó un análisis de varianza para evaluar diferencias entre tratamientos y una prueba de Tukey para comparaciones múltiples. **Resultados.** Los fungicidas fluzinam, clorotalonil, triadimenol-tebuconazol y cimoxanilo-propineb, y el insecticida clorpirifos, inhibieron entre un 53 % y un 88 % el crecimiento de *B. subtilis* Bs006 en su dosis recomendada. Los fungicidas, bactericidas e insecticidas como dimetomorf, carbendazim, flutriafol, kasugamicina, tiabendazol, validamicina A, clorfenapir, metoxifenoazida, lambdacialotrina, sulfoxaflor, espiromesifeno, entre otros, no impidieron el crecimiento, al igual que todos los fertilizantes y coadyuvantes evaluados. **Conclusiones.** Los resultados demostraron la viabilidad técnica y científica de incluir el bioestimulante Natibac[®] en esquemas de manejo integrado de cultivos junto con los agroquímicos que no afectaron el crecimiento de *B. subtilis* Bs006.

Palabras clave: bioestimulante, compatibilidad con agroquímicos, nivel de compatibilidad, inhibición del crecimiento.



Abstract

Introduction. The biostimulant Natibac[®], based on the rhizobacteria *Bacillus subtilis* Bs006 and developed by the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), has demonstrated a growth-promoting effect in various vegetable and fruit production systems. To guarantee the effectiveness of this bioproduct, it is essential to ensure its establishment in the soil, where it faces conditions typical of agroecosystems and interacts with different agrochemicals that can affect the viability of the active ingredient. **Objective.** To determine the effect that different agrochemicals used in fruit and vegetable crops have on the growth of *Bacillus subtilis* Bs006, with the purpose of generating recommendations for use in integrated crop management strategies. **Materials and methods.** This study was carried out in 2024 at the AGROSAVIA Bioproducts Pilot Plant facilities in Mosquera, Colombia. The *in vitro* effect of 57 agrochemicals widely used in the country on the growth of *B. subtilis* Bs006 was evaluated, analyzing fungicides, bactericides, insecticides, fertilizers, and adjuvants at three different doses. The bacterial sensitivity to agrochemicals was determined by measuring the inhibition halos according to a compatibility scale. An analysis of variance was performed to assess differences among treatments, followed by Tukey's test for multiple comparisons. **Results.** The fungicides fluazinam, chlorothalonil, triadimenol-tebuconazole, and cymoxanil-propineb, and the insecticide chlorpyrifos inhibited the growth of *B. subtilis* Bs006 by between 53 % and 88 % at their recommended doses. Fungicides, bactericides, and insecticides such as dimethomorph, carbendazim, flutriafol, kasugamycin, thiabendazole, validamycin A, chlorfenapyr, methoxyfenozide, lambda-cyhalothrin, sulfoxaflor, spiromesifen, among others, did not inhibit growth, as did all the fertilizers and adjuvants evaluated. **Conclusions.** The results suggest the potential integration of the bio-stimulant Natibac[®] with agrochemicals that did not negatively affect the growth of *B. subtilis* Bs006, as part of integrated crop management systems.

Keywords: biostimulant, compatibility with agrochemicals, compatibility level, growth inhibition.

Introducción

En la actualidad, la agricultura adopta estrategias orientadas hacia una producción agrícola sostenible, con un uso racional de los agroinsumos de síntesis química y alternativas de manejo del cultivo amigables con el medioambiente. Entre estas, se encuentran los bioplaguicidas, utilizados para el control de plagas y enfermedades, y los bioestimulantes, que maximizan el rendimiento en la producción mediante la mejora de la nutrición, la estimulación del crecimiento vegetal y la mitigación del estrés abiótico (Fenibo et al., 2021; Mannino, 2023; Meena et al., 2020).

A causa de los costos de los agroquímicos y la transición hacia una producción sostenible, los productores han optado por emplear bioestimulantes en diferentes sistemas productivos en Colombia, con el fin de suplir las aplicaciones de fertilizantes químicos. Gracias a ello, se ha observado la reducción en los costos de producción con rendimientos similares, así como la recuperación de algunas de las características de los suelos (Pardo & Orbeago, 2022; Rodríguez-Aristizabal & Lugo-Ramírez, 2023). En este contexto, el fortalecedor vegetal Natibac[®] SC, desarrollado por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), cuyo principio activo es la rizobacteria *Bacillus subtilis* Bs006 (familia Bacillaceae), ha evidenciado efectos promotores del crecimiento vegetal en diferentes especies de frutales y hortalizas (Beltrán-Acosta et al., 2023; Zapata-Narváez et al., 2024).

No obstante, las características propias de cada agroecosistema, la presencia de plagas, la incidencia de enfermedades y los requerimientos nutricionales específicos requieren la aplicación de diferentes agroquímicos. Al introducir un bioproducto a base de microorganismos en el sistema productivo es indispensable que este logre establecerse en el suelo. Por ello, es pertinente determinar los efectos que pueden tener los diferentes agroquímicos

utilizados sobre su viabilidad y así generar recomendaciones para la aplicación. Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de diferentes agroquímicos utilizados en cultivos hortofrutícolas sobre el crecimiento de *Bacillus subtilis* Bs006, con el propósito de generar recomendaciones de uso en estrategias de manejo integrado.

Materiales y métodos

Este trabajo se realizó en la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), Centro de Investigación Sede Central, km 14 vía Mosquera, Colombia. Los agroquímicos se seleccionaron según su uso común en los cultivos para los cuales el bioproducto está registrado ante el Instituto Colombiano Agropecuario, específicamente a su aplicación en solanáceas y hortalizas de hoja.

Microorganismo

Bacillus subtilis cepa Bs006 se aisló de la rizosfera de plantas sanas de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en un cultivo comercial ubicado en el municipio de Cóbbita, Boyacá, con presencia de síntomas de marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *physali*. Inicialmente, la cepa fue identificada como *Bacillus amyloliquefaciens* mediante la secuenciación total de su genoma en el MiSeq® de Illumina® System. Sin embargo, debido a la filogenética y a la fenética del grupo de bacterias asociadas crípticamente al complejo de especies de *Bacillus subtilis* Bs006 se reidentificó como *Bacillus subtilis* (Gamez et al., 2015).

La bacteria fue suministrada por la Colección de Microorganismos con Interés en Control Biológico de AGROSAVIA (Uribe Gutiérrez et al., 2023). Esta se almacenó a -72°C en glicerol al 1 % y se reactivó mediante siembra en agar Luria Bertani (LB). La pureza del cultivo se verificó con observación microscópica a través de una tinción de Gram. Su producción masiva se realizó en el medio de cultivo codificado como JM en la Planta Piloto de Bioproductos de AGROSAVIA, previamente estandarizado en un biorreactor de tanque agitado de 13 L bajo las condiciones establecidas por Díaz-García et al. (2015).

Agroquímicos evaluados

Se evaluaron veintidós fungicidas, cinco bactericidas, once insecticidas (Cuadro 1), catorce fertilizantes y cinco coadyuvantes (Cuadro 2), químicos comúnmente utilizados en Colombia en diferentes sistemas agrícolas. Se definió como nivel intermedio la dosis recomendada en la ficha técnica de cada producto (1), como nivel bajo, la mitad de esta (0,5) y, como nivel alto, al doble (2).

Efecto de los agroquímicos sobre el crecimiento de *B. subtilis* Bs006

Se prepararon cajas de Petri con agar LB, inoculadas con 100 μl de una suspensión de *B. subtilis* Bs006 a una concentración de 1×10^8 UFC/mL. Se distribuyó uniformemente sobre la superficie del agar utilizando un rastrillo Drigalski; posteriormente, se humedecieron con 20 μL del agroquímico a evaluar cuatro discos de papel filtro Whatman® de 6 mm de diámetro y se ubicaron sobre la superficie de las cajas inoculadas en forma de cruz (Mormak & Casida, 1985). Como control se utilizaron discos de papel filtro humedecidos en agua destilada estéril.

Las cajas se llevaron a incubación durante 72 horas a 28°C , para después medir el diámetro de la zona de inhibición formada por cada tratamiento y determinar la sensibilidad de *B. subtilis* Bs006 a los agroquímicos. La comparación del crecimiento se realizó con una escala definida: 0: sin crecimiento bacteriano (incompatible); 1: zona de inhibición mayor a 5 mm (incompatible); 2: zona de inhibición inferior a 5 mm (parcialmente compatible),

Cuadro 1. Dosis recomendada de fungicidas, bactericidas e insecticidas evaluados. Laboratorio de la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Octubre de 2024.

Table 1. Recommended dose of fungicides, bactericides, and insecticides evaluated. Bioproducts Pilot Plant Laboratory of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). October 2024.

| Agroquímico | Principio activo | Dosis | Agroquímico | Principio activo | Dosis |
|------------------------------|------------------------------|--------------|-------------------------------|------------------------------------|----------|
| Fungicida | Azoxistrobina | 0,5 g/L | Fungicida | Tiabendazol | 0,9 mL/L |
| | Azoxistrobina-ciproconazol | 3,5 mL/L | | Tiofanato-metilo | 1,5 mL/L |
| | Azoxistrobina-difenoconazol | 1,25 mL/L | | Triadimenol-tebuconazol | 1 mL/L |
| | Azoxistrobina-mancozeb | 10 g/L | Bactericidas y desinfectantes | Validamicina A | 5 mL/L |
| | Carbendazim | 0,5 mL/L | | Oxitetraciclina- oxiclورو de cobre | 1 g/L |
| | Cimoxanilo-propineb | 2,5 g/L | | Gentamicina | 1,2 g/L |
| | Clorotalonil | 1 mL/L | | Ácido oxolínico | 1,25 g/L |
| | Difenoconazol | 0,6 g/L | | Complejo de yodo | 5 mL/L |
| | Dimetomorf | 0,8 mL/L | | β-Ciflutrina-imidacloprid | 1 mL/L |
| | Fluazinam | 1 mL/L | Insecticida | Clorfenapir | 0,6 mL/L |
| | Fludioxonil-ciprodinil | 0,6 g/L | | Extracto de ajo y ají | 1 mL/L |
| | Flutriafol | 0,8 mL/L | | Lambdacialotrina | 1 mL/L |
| | Fosetil-Al-propamocarb | 2,5 mL/L | | Malatión | 1 mL/L |
| | Kasugamicina | 1,5 mL/L | | Metoxifenoazida | 1 mL/L |
| | Mandipropamid | 1 mL/L | | Aceite mineral | 3 mL/L |
| | Piraclostrobina-fluxapiroxad | 0,375 mL/L | | Dinotefurano | 0,5 mL/L |
| Pirimetaniil-iprodisina | 1 mL/L | Sulfoxaflor | | 1 mL/L | |
| Propamocarb-fenamidona | 2 mL/L | Spiromesifen | | 0,5 mL/L | |
| Tebuconazol-trifloxistrobina | 0,5 mL/L | Clorpirifos | | 3 mL/L | |

y 3: sin halo de inhibición (compatible). El porcentaje de inhibición se calculó mediante la ecuación 1 (Mormak & Casida, 1985).

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{\text{diámetro de inhibición del agroquímico}}{\text{diámetro máximo de inhibición (28 mm)}} \times 100 \% \quad (1)$$

Diseño experimental y análisis de datos

Se empleó un diseño completamente al azar con la caja de Petri como unidad experimental, la cual contaba con cuatro repeticiones. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza y las medias se compararon con la prueba Tukey empleando el *software* estadístico RStudio®.

Cuadro 2. Dosis recomendada de coadyuvantes y fertilizantes evaluados. Laboratorio de la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Octubre de 2024.

Table 2. Recommended dose of adjuvants and fertilizers evaluated. Bioproducts Pilot Plant Laboratory of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). October 2024.

| Agroquímico | Principio activo | Dosis |
|--------------|---------------------|------------------------|
| Coadyuvante | Agrotin® SL | 1 mL/L |
| | COSMO-IN d® | 2 mL/L |
| | Hipotensor SYS® | 1 mL/L |
| | MF Redux® | 1 mL/L |
| | SILICROP® E.C | 0,175 L/L |
| Fertilizante | Algas 500® | 1-1,5 L/200 L |
| | Formador® 2000 | 1-2 L/ha |
| | Folyfos® 12-61-0 | 1 kg/ha |
| | Boroval® | 80-100 mL/100 L |
| | Go Up Micro® | 1-3 L/ha |
| | Green 40 | 2,5 mL/L |
| | Incafos® K | 4-7 L/ha |
| | Kelpak® | 2-4 L/200 L |
| | Master® 13-40-13 | 1-1,5 g/m ² |
| | Metalosate® T | 0,5-2 L/ha |
| | Omex® K-41 | 1 L/200 L |
| | Plantafol® 10-54-10 | 2 g/L |
| | Stimplex® | 1-2 L/ha |
| | Tottal® | 1-2 L/ha |

Resultados

El efecto de los fungicidas sobre el crecimiento de *B. subtilis* Bs006 fue dependiente de la dosis aplicada. Con dosis doble, el fungicida fluazinam fue el único que logró una inhibición del 100 %, mientras que clorotalonil, triadimenol-tebuconazol y cimoxanilo-propineb mostraron una afectación significativa, con valores que oscilaron entre un 58 y 67 %. En cambio, los fungicidas difenoconazol, propiconazol, azoxistrobina-difenoconazol, azoxistrobina, azoxistrobina-mancozeb y fludioxonil-ciprodinil presentaron un efecto menor, con porcentajes entre 19 y 45 % (Figura 1).

Cuando se utilizó la dosis recomendada, se mantuvo una tendencia similar. Los fungicidas fluazinam, clorotalonil, triadimenol-tebuconazol y cimoxanilo-propineb inhibieron el crecimiento en un rango entre 53 y 88 %. Sin embargo, difenoconazol, azoxistrobina-difenoconazol, azoxistrobina, azoxistrobina-mancozeb y fludioxonil-ciprodinil presentaron una menor actividad, con valores entre 12 y 32 % (Figura 1).

De manera particular, el clorotalonil a media dosis logró inhibir el crecimiento en un 63 % (Figura 1; Figura 2A). Sin embargo, fluazinam, triadimenol-tebuconazol, cimoxanilo-propineb, difenoconazol, azoxistrobina-mancozeb y fludioxonil-ciprodinil mostraron resultados entre 16 y 49 %. En contraste, los fungicidas azoxistrobina-difenoconazol y azoxistrobina no evidenciaron ningún efecto (Figura 1).

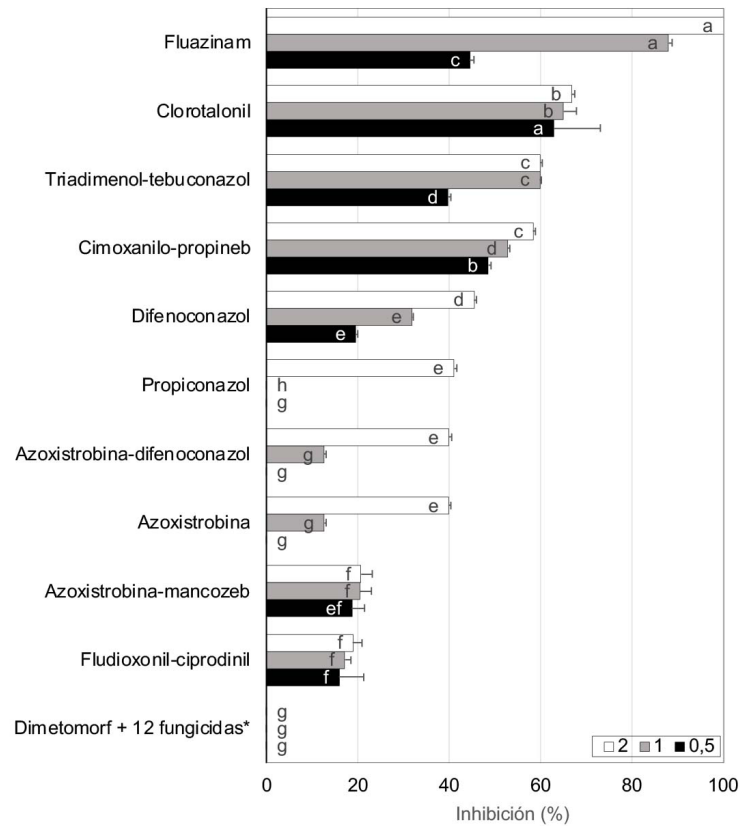


Figura 1. Inhibición del crecimiento de *B. subtilis* Bs006 por fungicidas. Laboratorio de la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Octubre de 2024.

*Ciproconazol, tiabendazol, azoxistrobina-carbendazim, flutriafol, fosetil-Al-propamocarb, kasugamicina, mandipropamid, propamocarb-fenamidona, piraclostrobina-fluxapiroxad, pirimetanil-iprodiona, tebuconazol-trifloxistrobin y tiofanato-metilo.

Las dosis corresponden a 2: el doble de la dosis recomendada, 1: dosis recomendada y 0,5: la mitad de la dosis recomendada. Barras con la misma letra no presentan diferencias de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figure 1. Growth inhibition of *B. subtilis* Bs006 by fungicides. Bioproducts Pilot Plant Laboratory of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). October 2024.

*Cyproconazole, thiabendazole, azoxystrobin-carbendazim, flutriafol, fosetyl-Al-propamocarb, kasugamycin, mandipropamid, propamocarb-fenamidone, pyraclostrobin-fluxapyroxad, pyrimethanil-iprodione, tebuconazole-trifloxystrobin and thiophanate-methyl.

The doses correspond to 2: twice the recommended dose, 1: the recommended dose, and 0.5: half the recommended dose. Bars with the same letter indicate no significant differences according to Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

Respecto a los bactericidas, en presencia del complejo de yodo se observó la mayor inhibición del crecimiento de la bacteria en todas las dosis evaluadas, con valores entre 44 y 58 %. El ácido oxolínico y la gentamicina mostraron resultados moderados en las tres dosis, con rangos de 21 y 26 % y de 13 y 18 %, respectivamente. Sin embargo, en presencia de la oxitetraciclina-oxicloruro de cobre el crecimiento fue inhibido solo hasta en un 10 % y frente a validamicina A el crecimiento de la bacteria no fue inhibido por ninguna de las tres dosis (Figura 3).

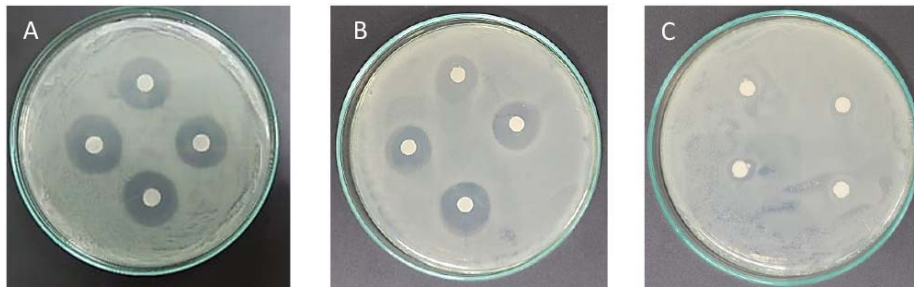


Figura 2. Vista macroscópica de la inhibición de crecimiento *in vitro* de *B. subtilis* Bs006 frente a fungicida y bactericida. **A.** Clorotalonil a una concentración del 50 %. **B.** Complejo de yodo a una concentración del 100 %. **C.** Control. Laboratorio de la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Octubre de 2024.

Figure 2. Macroscopic view of the *in vitro* growth inhibition of *B. subtilis* Bs006 against fungicide and bactericide. **A.** Chlorothalonil at a concentration of 50 %. **B.** Iodine complex at a concentration of 100 %. **C.** Control. Bioproducts Pilot Plant Laboratory of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). October 2024.

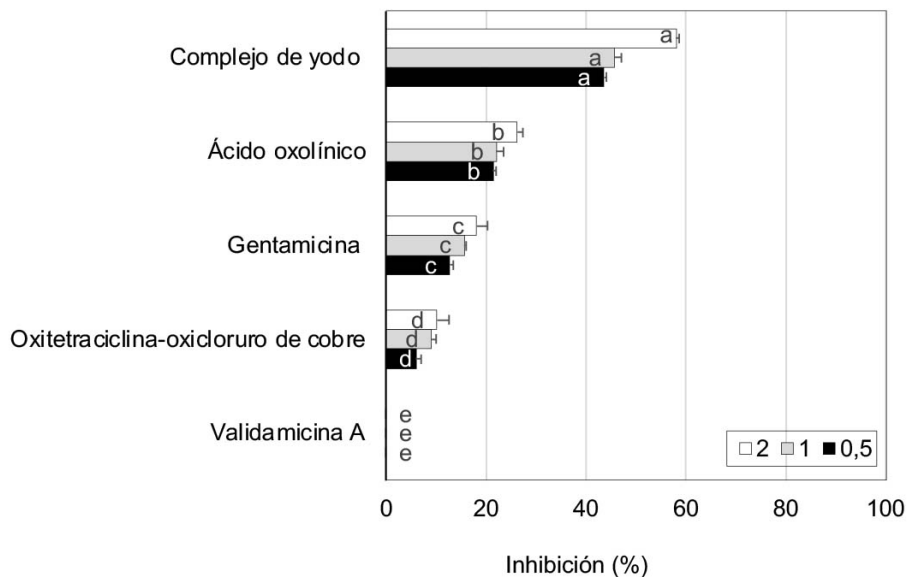


Figura 3. Inhibición del crecimiento de *B. subtilis* Bs006 por bactericidas. Laboratorio de la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Octubre de 2024.

Las dosis corresponden a 2: el doble de la dosis recomendada, 1: dosis recomendada y 0,5: la mitad de la dosis recomendada. Barras con la misma letra no presentan diferencias de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figure 3. Growth inhibition of *B. subtilis* Bs006 by bactericides. Bioproducts Pilot Plant Laboratory of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). October 2024.

The doses correspond to 2: twice the recommended dose, 1: the recommended dose, and 0.5: half the recommended dose. Bars with the same letter indicate no significant differences according to Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

Con relación a los insecticidas, clorpirifos presentó la mayor inhibición del crecimiento de la bacteria con valores entre 27 y 69 % en todas las dosis. En el caso de spiromesifen, se observó un valor de 25 % cuando se aplicó el doble de la dosis, mientras que en la dosis recomendada y a media dosis no afectó el crecimiento de la bacteria, al igual que los demás insecticidas (Figura 4). Ninguno de los fertilizantes ni coadyuvantes afectaron el crecimiento de *B. subtilis* Bs006. De acuerdo con los resultados, el 75 % de los agroquímicos evaluados pueden ser considerados como compatibles con *B. subtilis* Bs006 (Natibac®) (Cuadros 3 y 4).

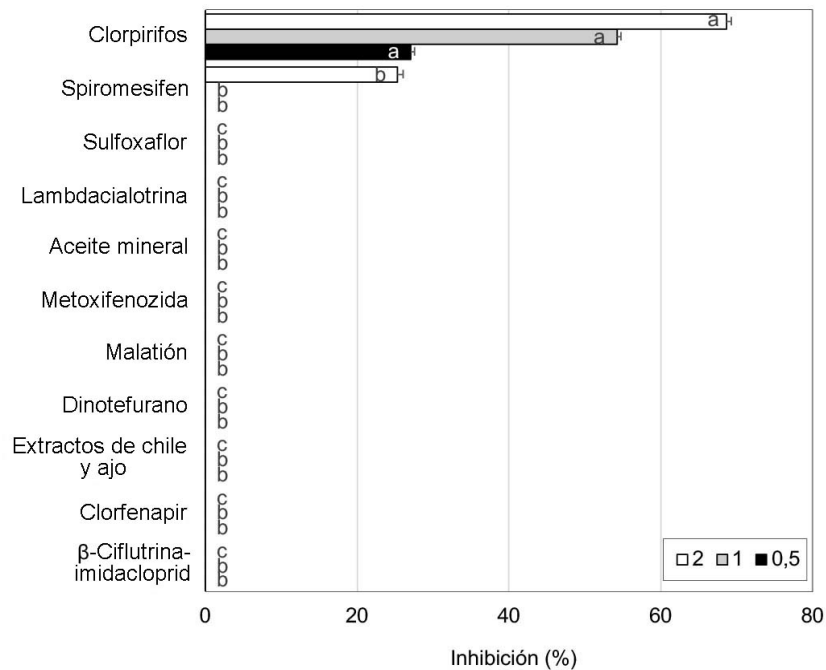


Figura 4. Inhibición del crecimiento de *B. subtilis* Bs006 por insecticidas. Laboratorio de la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Octubre de 2024.

Las dosis corresponden a 2: el doble de la dosis recomendada, 1: dosis recomendada y 0,5: la mitad de la dosis recomendada. Barras con la misma letra no presentan diferencias de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figure 4. Growth inhibition of *B. subtilis* Bs006 by insecticides. Bioproducts Pilot Plant Laboratory of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). October 2024.

The doses correspond to 2: twice the recommended dose, 1: the recommended dose, and 0.5: half the recommended dose. Bars with the same letter indicate no significant differences according to Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

Cuadro 3. Compatibilidad de fungicidas y bactericidas con *B. subtilis* Bs006. Laboratorio de la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Octubre de 2024.

Table 3. Compatibility of fungicides and bactericides with *B. subtilis* Bs006. Bioproducts Pilot Plant Laboratory of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). October 2024.

| Agroquímico | Principio activo | Compatibilidad |
|----------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| Fungicida | Azoxistrobina-ciproconazol | Compatible |
| | Dimetomorf | Compatible |
| | Fosetil-Al-propamocarb | Compatible |
| | Flutriafol | Compatible |
| | Kasugamicina | Compatible |
| | Carbendazim | Compatible |
| | Mandipropamid | Compatible |
| | Propamocarb-fenamidona | Compatible |
| | Piraclostrobina-fluxapiroxad | Compatible |
| | Pirimetanil-iprodiona | Compatible |
| | Tebuconazol-trifloxistrobina | Compatible |
| | Tiabendazol | Compatible |
| | Tiofanato-metilo | Compatible |
| | Difenoconazol | Medianamente compatible |
| | Fludioxonil-ciprodinil | Medianamente compatible |
| | Azoxistrobina-mancozeb | Medianamente compatible |
| | Azoxistrobina-difenoconazol | Medianamente compatible |
| | Azoxistrobina | Medianamente compatible |
| Cimoxanilo-propineb | Incompatible | |
| Triadimenol-tebuconazol | Incompatible | |
| Clorotalonil | Incompatible | |
| Fluazinam | Incompatible | |
| Bactericida-desinfectante | Validamicina A | Compatible |
| | Gentamicina | Medianamente compatible |
| | Ácido oxolínico | Medianamente compatible |
| | Oxitetraciclina- oxiclورو de cobre | Medianamente compatible |
| | Complejo de yodo | Medianamente compatible |

Cuadro 4. Compatibilidad de insecticidas, coadyuvantes y fertilizantes con *B. subtilis* Bs006. Laboratorio de la Planta Piloto de Bioproductos de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). Octubre de 2024.

Table 4. Compatibility of insecticides, adjuvants and fertilizers with *B. subtilis* Bs006. Bioproducts Pilot Plant Laboratory of the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). October 2024.

| Agroquímico | Principio activo | Compatibilidad |
|---------------------|----------------------------------|----------------|
| Insecticida | Clorpirifos | Incompatible |
| | Clorfenapir | Compatible |
| | Extracto de ajo y ají | Compatible |
| | Dinotefurano | Compatible |
| | Malatión | Compatible |
| | Metoxifenoazida | Compatible |
| | Aceite mineral | Compatible |
| | Lambdacialotrina | Compatible |
| | Sulfoxaflor | Compatible |
| | Spiromesifen | Compatible |
| | β -Ciflutrina-imidacloprid | Compatible |
| Coadyuvante | Agrotin [®] SL | Compatible |
| | COSMO-IN d [®] | Compatible |
| | Hipotensor SYS [®] | Compatible |
| | MF Redux [®] | Compatible |
| | SILICROP [®] E.C | Compatible |
| Fertilizante | Algas 500 [®] | Compatible |
| | Plantafof [®] 10-54-10 | Compatible |
| | Master [®] 13-40-13 | Compatible |
| | Formador [®] 2000 | Compatible |
| | Go Up Micro [®] | Compatible |
| | Green 40 | Compatible |
| | Incafos [®] K | Compatible |
| | Kelpak [®] | Compatible |
| | Folyfos [®] 12-61-0 | Compatible |
| | Metalosate [®] T | Compatible |
| | Omex [®] K-41 | Compatible |
| | Boroval [®] | Compatible |
| | Stimplex [®] | Compatible |
| Tottal [®] | Compatible | |

Discusión

En este estudio, los fungicidas como fluazinam, clorotalonil, triadimenol-tebuconazol y cimoxanilo-propineb, aplicados a dosis recomendada, afectaron significativamente el crecimiento de *B. subtilis* Bs006. El fluazinam actúa

a través de un mecanismo específico que afecta la fosforilación oxidativa en las mitocondrias fúngicas (Magalon & Alberge, 2016), lo que reduce la síntesis de adenosín trifosfato (ATP) y afecta críticamente todos los procesos dependientes de energía. Aunque este agroquímico se desarrolló para el control de hongos, los resultados sugieren que su exposición podría interferir con los procesos energéticos de *B. subtilis* Bs006. En bacterias, la fosforilación oxidativa ocurre en la membrana celular, por lo tanto, es posible que el fluazinam haya reducido la eficiencia de la producción de ATP, lo que explicaría la inhibición de crecimiento.

El clorotalonil, el triadimenol-tebuconazol y el cimoxanilo-propineb actúan sobre mecanismos involucrados en la síntesis y la funcionalidad de la membrana celular (Bitton et al., 1988; Shahid et al., 2021). Aunque existen diferencias caracterizadas entre la composición de la membrana de hongos (ergosterol como componente dominante) y las bacterias grampositivas como *B. subtilis* (fosfolípidos, lípidos neutros y glicolípidos) (Koga et al., 1998), los fungicidas tienen la capacidad de alterar los procesos de formación, reparación y funcionalidad de la membrana celular bacteriana (Sliti et al., 2024).

La membrana es especialmente vulnerable a estos agroquímicos porque alberga los complejos de la cadena de transporte de electrones necesarios para la fosforilación oxidativa (Mitchell, 1961). Cualquier daño que se produzca en ella altera simultáneamente múltiples funciones celulares fundamentales para la supervivencia y replicación bacteriana, como la síntesis de ATP, el transporte de sustancias, el mantenimiento de gradientes iónicos y la respuesta al estrés (Nagaraju et al., 2017).

En contraste, fungicidas como dimetomorf, carbendazim, flutriafol, kasugamicina, tiabendazol, tiofanato-metilo y propamocarb-fenamidona no inhibieron significativamente el crecimiento de *B. subtilis* Bs006. Esta compatibilidad puede explicarse por mecanismos de detoxificación específicos en *B. subtilis*, una permeabilidad membranal reducida a estos compuestos, o por diferencias estructurales (Steinberg et al., 2020). Por ejemplo, el carbendazim actúa interfiriendo con la polimerización de microtúbulos (proceso específico de eucariontes), por lo que bacterias grampositivas como *B. subtilis*, que carecen de esta estructura del citoesqueleto, son naturalmente resistentes a este mecanismo de acción (Yang et al., 2011). De manera similar, el flutriafol y el tebuconazol son inhibidores específicos de la síntesis de ergosterol en hongos; al carecer *B. subtilis* de ergosterol en su membrana, estos agroquímicos no afectan fundamentalmente su viabilidad (Song et al., 2025).

La reducción del crecimiento de *B. subtilis* Bs006 tras la exposición a bactericidas y fungicidas se ha relacionado con daños ultraestructurales en la membrana celular. Estudios en *B. subtilis* BC8 han observado el deterioro y la pérdida de viabilidad de las células mediante microscopía electrónica de transmisión y barrido. Esto se debe a los daños detectados en la pared y la membrana celulares, lo que modificó la integridad de la célula, particularmente en presencia de metalaxil y carbendazim (Shahid & Khan, 2022). Asimismo, moléculas químicas como kitazin y hexaconazol ocasionan un efecto negativo al permear la membrana celular y permitir el ingreso de sustancias tóxicas al interior de la célula, lo cual interfiere con el metabolismo celular, provoca estrés oxidativo, altera el crecimiento bacteriano e incluso puede causar la muerte del microorganismo (Bitton et al., 1988; Nagaraju et al., 2017; Shahid et al., 2021).

En presencia de agroquímicos del tipo antibióticos y desinfectantes, solo el complejo de yodo produjo una inhibición significativa de *B. subtilis* Bs006 (mayor al 40 %). Su mecanismo de acción, ampliamente estudiado, implica la penetración de la pared celular y su actuación como un potente oxidante, lo que provoca la precipitación de proteínas y la desnaturalización de ácidos nucleicos, procesos que conllevan la muerte celular (Diomedí et al., 2017).

La baja inhibición del crecimiento de la bacteria en presencia de los antibióticos gentamicina y oxitetraciclina puede atribuirse a la elevada capacidad de supervivencia de *B. subtilis*, como previamente se ha descrito (Morawska & Kuipers, 2023). Este comportamiento se explica por la activación de mecanismos sofisticados de supervivencia que le permiten tolerar la exposición a estos compuestos. Estos permiten cambios osmóticos transitorios o sostenidos que modifican la permeabilidad membranal; la inducción de un estado de dormancia inactivo (activo,

pero no cultivable) que permite la supervivencia bacteriana incluso a concentraciones altas de antibióticos (Zhao et al., 2017), y la activación de sistemas de defensa oxidativa y protección del ADN.

La compatibilidad total observada entre todos los fertilizantes y coadyuvantes evaluados y *B. subtilis* Bs006 tiene implicaciones prácticas relevantes. Los fertilizantes, especialmente aquellos con ingredientes activos como algas, aminoácidos quelados y extractos de plantas, mejoran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Dichos insumos favorecen la proliferación de microorganismos beneficiosos como bacterias promotoras del crecimiento y hongos micorrízicos, y estimulan procesos fisiológicos en las plantas (Deng et al., 2025; Quintarelli et al., 2024). Además, no representan una limitación para la aplicación conjunta con el bioproducto Natibac®.

Se determinó que dieciocho fungicidas y cinco bactericidas fueron compatibles o parcialmente compatibles con *B. subtilis* Bs006. Esta compatibilidad parcial puede atribuirse a las respuestas de defensa de las células bacterianas frente al estrés ocasionado por los plaguicidas, principalmente mediadas por la producción de enzimas antioxidantes. *Bacillus subtilis* produce al menos nueve enzimas potenciales para eliminar peróxidos (Zwick et al., 2017), así como catalasa y superóxido dismutasa (Angelini et al., 2023; da Cruz Nizer et al., 2024). Estas enzimas pueden limitar significativamente el daño causado por especies reactivas de oxígeno y preservar la integridad de las membranas y macromoléculas (Ramsden, 2017; Rath & Das, 2025).

Conclusiones

La inhibición del crecimiento de *Bacillus subtilis* Bs006 observada con varios de los agroquímicos evaluados se atribuyó principalmente a la toxicidad ejercida por ciertos productos sobre la bacteria. Compuestos como clorpirifos, cimoxanilo-propineb, triadimenol-tebuconazol, clorotalonil y fluazinam generaron los mayores niveles de inhibición. El resto ocasionó reducciones menores, lo que permitió establecer distintos grados de compatibilidad entre los agroquímicos analizados y *B. subtilis* Bs006, y valorar su uso conjunto según el nivel de inhibición registrado.

Los resultados de la compatibilidad de fertilizantes y coadyuvantes evaluados indican que no hubo afectación a su crecimiento. En este sentido, se demuestra la viabilidad técnica y científica de incorporar el bioestimulante Natibac® junto con los agroquímicos que no afectaron el crecimiento de *B. subtilis* Bs006 para contribuir al desarrollo de sistemas de producción sostenibles.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), por la financiación del proyecto “F2 Diseño de formulaciones innovadoras de un fortalecedor vegetal a base de la rizobacteria *Bacillus amyloliquefaciens* – 1001357” que permitió el desarrollo del trabajo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Referencias

- Angelini, L. L., dos Santos, R. A. C., Fox, G., Paruthiyil, S., Gozzi, K., Shemesh, M., & Chai, Y. (2023). Pulcherrimin protects *Bacillus subtilis* against oxidative stress during biofilm development. *npj Biofilms and Microbiomes*, 9, Artículo 50. <https://doi.org/10.1038/s41522-023-00418-z>
- Beltrán-Acosta, C. R., Zapata-Narváez, Y. A., Millán-Montaño, D. A., & Díaz-García, A. (2023). Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Pseudomonas migulae* on the growth of gooseberry (*Physalis peruviana* L.) seedlings. *Agronomía Mesoamericana*, 34(1), Artículo 50669. <https://doi.org/10.15517/am.v34i1.50669>
- Bitton, G., Dutton, R. J., Koopman, B., & Dutka, B. J. (1988). Cell permeability to toxicants: An important parameter in toxicity tests using bacteria. *Critical Reviews in Environmental Control*, 18(3), 177-188. <https://doi.org/10.1080/10643388809388347>
- Da Cruz Nizer, W. S., Adams, M. E., Allison, K. N., Montgomery, M. C., Mosher, H., Cassol, E., & Overhage, J. (2024). Oxidative stress responses in biofilms. *Biofilm*, 7, Artículo 100203. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2024.100203>
- Deng, X., Liu, W., Huang, P., Zhang, Y., Zhang, S., Guo, Y., Wu, S., & Jiao, Z. (2025). Effects of *Bacillus subtilis* N24 combined with liquid water-soluble carbon fertilizer on soil chemical properties and microbial community of fresh maize. *BMC Microbiology*, 25, Artículo 205. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03928-2>
- Díaz-García, A., García-Riaño, J., & Zapata-Narvaez, J. (2015). Improvement of sporulation conditions of a new strain of *Bacillus amyloliquefaciens* in liquid fermentation. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 6, 302-310. <https://doi.org/10.4236/abb.2015.64029>
- Diomedi, A., Chacón, E., Delpiano, L., Hervé, B., Jemenao, M. I., Medel, M., Quintanilla, M., Riedel, G., Tinoco, J., & Cifuentes, M. (2017). Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Revista Chilena de Infectología*, 34(2), 156-174. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000200010>
- Fenibo, E. O., Ijoma, G. N., & Matambo, T. (2021). Biopesticides in sustainable agriculture: a critical sustainable development driver governed by green chemistry principles. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, Artículo 619058. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.619058>
- Gamez, R. M., Rodríguez, F., Bernal, J. F., Agarwala, R., Landsman, D., & Mariño-Ramírez, L. (2015). Genome sequence of the banana plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* BS006. *Genome Announcements*, 3(6), Artículo e01391-15. <https://doi.org/10.1128/genomea.01391-15>
- Koga, Y., Kyuragi, T., Nishihara, M., & Sone, N. (1998). Did archaeal and bacterial cells arise independently from noncellular precursors? A hypothesis stating that the advent of membrane phospholipid with enantiomeric glycerophosphate backbones caused the separation of the two lines of descent. *Journal of Molecular Evolution*, 46(1), 54-63. <https://doi.org/10.1007/pl00006283>
- Magalon, A., & Alberge, F. (2016). Distribution and dynamics of OXPHOS complexes in the bacterial cytoplasmic membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1857(3), 198-213. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.10.015>
- Mannino, G. A. (2023). A new era of sustainability: plant biostimulants. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22), Artículo 16329. <https://doi.org/10.3390/ijms242216329>

- Meena, R. S., Kumar, S., Datta, R., Lal, R., Vijayakumar, V., Brtnicky, M., Sharma, M. P., Yadav, G. S., Jhariya, M. K., Jangir, C. K., Pathan, S. I., Dokulilova, T., Pecina, V., & Marfo, T. D. (2020). Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: a review. *Land*, 9(2), Artículo 34. <https://doi.org/10.3390/land9020034>
- Mitchell, P. (1961). Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature*, 191, 144-148. <https://doi.org/10.1038/191144a0>
- Morawska, L. P., & Kuipers, O. P. (2023). Antibiotic tolerance in environmentally stressed *Bacillus subtilis*: physical barriers and induction of a viable but nonculturable state. *MicroLife*, 3, 1-18. <https://doi.org/10.1093/femsml/uqac010>
- Mormak, D. A., & Casida, L. E. (1985). Study of *Bacillus subtilis* endospores in soil by use of a modified endospore stain. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(6), 1356-1360. <https://doi.org/10.1128/aem.49.6.1356-1360.1985>
- Nagaraju, Y., Triveni, S., Subhash Reddy, R., & Vidyasagar, B. (2017). Screening of potassium releasing rhizospheric isolates for agrochemicals compatibility. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 372-378. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.042>
- Pardo, J. C., & Orbegozo, M. C. (2022). *Bioinsumos: panorama y oportunidades para el agro colombiano*. Corficolombiana. <https://investigaciones.corfi.com/documents/38211/0/2022-08-23%20Perspectiva%20Sectorial%20-%20Aagroindustria%20bioinsumos2.pdf/b70b971d-0923-a695-9b37-717ca1298a79>
- Quintarelli, V., Borgatti, D., Baretta, M., Stazi, S. R., Allevato, E., Pancaldi, S., Baldisserotto, C., Mancinelli, R., Tedeschi, P., Radicetti, E., & Ben Hassine, M. (2024). Microbial biofertilizers and algae-based biostimulant affect fruit yield characteristics of organic processing tomato. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 105(1), 530-539. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13851>
- Ramsden, J. J. (2017). Can bacteria develop resistance to photocatalytically generated reactive oxygen species? *Journal of Biological Physics and Chemistry*, 17(2), 47-51. <https://doi.org/10.4024/06RA17N.jbpc.17.02>
- Rath, S., & Das, S. (2025). Stress response proteins within biofilm matrixome protect the cell membrane against heavy metals-induced oxidative damage in a marine bacterium *Bacillus stercoris* GST-03. *International Journal of Biological Macromolecules*, 293, Artículo 139397. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.139397>
- Rodríguez-Aristizabal, M. A., & Lugo-Ramírez, M. C. (2023). Estado actual del uso de bioinsumos microbianos en Colombia. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 39(3), 444-456. <https://doi.org/10.29393/chjaa39-39eammm20039>
- Shahid, M., & Khan, M. S. (2022). Ecotoxicological implications of residual pesticides to beneficial soil bacteria: A review. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 188, Artículo 105272. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105272>
- Shahid, M., Manoharadas, S., Altaf, M., & Alrefaei, A. F. (2021). Organochlorine pesticides negatively influenced the cellular growth, morphostructure, cell viability, and biofilm-formation and phosphate-solubilization activities of *Enterobacter cloacae* strain EAM 35. *ACS Omega*, 6(8), 5548-5559. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05931>
- Sliti, A., Singh, V., Ibal, J. C., Jeong, M., & Shin, J.-H. (2024). Impact of propiconazole fungicide on soil microbiome (bacterial and fungal) diversity, functional profile, and associated dehydrogenase activity. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(5), 8240-8253. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-31643-w>
- Song, L., Wang, S., Zou, H., Yi, X., Jia, S., Li, R., & Song, J. (2025). Regulation of Ergosterol Biosynthesis in Pathogenic Fungi: Opportunities for Therapeutic Development. *Microorganisms*, 13(4), Artículo 862. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13040862>

- Steinberg, G., Schuster, M., Gurr, S. J., Schrader, T. A., Schrader, M., Wood, M., Early, A., & Kilaru, S. (2020). A lipophilic cation protects crops against fungal pathogens by multiple modes of action. *Nature Communications*, *11*, Artículo 1608. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14949-y>
- Uribe Gutiérrez, L. A., Cotes Prado, A. M., Zapata Narváez, J. A., Beltrán Acosta, R. C., Torres Torres, L. A., García Riaño, J. L., Santos Díaz, A. M., & Mejía Maldonado, C. N. (2023). *Colección de microorganismos con interés en control biológico - AGROSAVIA*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. <https://doi.org/10.15472/mwppqlq>
- Yang, C., Hamel, C., Vujanovic, V., & Gan, Y. (2011). Fungicide: modes of action and possible impact on nontarget microorganisms. *International Scholarly Research Notices*, *2011*(1), 130289. <https://doi.org/10.5402/2011/130289>
- Zapata-Narváez, Y., Díaz-García, A., Beltrán-Acosta, C., Barrios-Candil, S., Gómez-Marroquín, M., & Cortes-Rojas, D. (2024). *Bacillus subtilis* Bs006 formulations: storage stability, biological activity and endophytism in vegetables. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, *40*(1), 81-90. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS40-8BSYD60008>
- Zhao, X., Zhong, J., Wei, C., Lin, C. W., & Ding, T. (2017). Current perspectives on viable but non-culturable state in foodborne pathogens. *Frontiers in Microbiology*, *8*, Artículo 580. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00580>
- Zwick, J. V., Noble, S., Ellaicy, Y. K., Coe, G. D., Hakey, D. J., King, A. N., Sadauskas, A. J., & Faulkner, M. J. (2017). AhpA is a peroxidase expressed during biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *MicrobiologyOpen*, *6*(1), Artículo e00403. <https://doi.org/10.1002/mbo3.403>